



**Universidad**  
Zaragoza

# Proyecto Fin de Carrera

## SIMULACIÓN POR ELEMENTOS FINITOS DE LA INTERACCIÓN MECÁNICA CÉLULA-MATERIAL

Autor

Javier Palacio Torralba

Director

Dr. José Manuel García Aznar

Escuela de Ingeniería y Arquitectura

Zaragoza, Febrero de 2012





# SIMULACIÓN POR ELEMENTOS FINITOS DE LA INTERACCIÓN MECÁNICA CÉLULA-MATERIAL

## RESUMEN

El objetivo principal de este proyecto consiste en desarrollar un método numérico basado en el análisis por elementos finitos que permita calcular las fuerzas que las células ejercen sobre un material cuando éstas interaccionan con él. Para ello se utilizarán modelos 2D, semi-3D y 3D que permiten describir las diferentes técnicas experimentales más habituales en la literatura para caracterizar la interacción de las células con el medio que las rodea. Se estudiarán diferentes métodos de resolución del problema y se compararán desde puntos de vista como la precisión y el coste computacional.

Durante el proyecto se utilizarán herramientas informáticas comerciales como ABAQUS y Matlab. El primero nos permitirá crear los modelos numéricos de elementos finitos necesarios, que serán un *input* del método propuesto. En Matlab se programarán *scripts* para el tratamiento de los datos generados con el programa de elementos finitos y nos permitirá, en última instancia, obtener los resultados buscados: las fuerzas que la célula ejerce sobre el sustrato. Se compararán además las soluciones obtenidas a través del método de los elementos finitos con la solución teórica de Boussinesq.

Las características de los materiales y el programa que permite obtener las fuerzas a partir de la solución de Boussinesq han sido facilitados por investigadores de los centros de investigación CEIT y CIMA con los que se colabora activamente a través de un proyecto del Plan Nacional titulado:” *Computer design and manufacture of microdevices for researching the impact of mechanical factors in cell migration. DPI 2009-14115* ”.



## **Agradecimientos**

Quisiera agradecer en primer lugar al director del proyecto: José Manuel García Aznar. Sin su ayuda, indicaciones y consejos este trabajo no habría sido posible. A la profesora María Ángeles Pérez Ansón por su ayuda para hacer funcionar los distintos programas que he utilizado y por ponerme en contactos con expertos en redes neuronales.

A los estudiantes de doctorado del departamento por ayudarme en los primeros pasos (y en los siguientes) de uso de los diferentes programas.

A Javier Martínez Torres del Centro Universitario de la Defensa por sus buenas explicaciones y consejos sobre redes neuronales.

A los colaboradores del CEIT (Centro de estudios e investigaciones técnica de Gipuzkoa) y CIMA (Centro internacional de medicina avanzada) por facilitarme sus datos y programas. En especial a Álvaro Jorge por prestarme su software y explicarme detalladamente las metodologías actuales de TFM.

Por último, pero no por ello de menor importancia, a mi familia y amigos.



# Índice

<b>Índice</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Introducción</b> .....	<b>3</b>
1.1 Objetivos.....	4
<b>2. Estado del arte en la resolución de problemas inversos</b> .....	<b>8</b>
2.1. Recuperación de las fuerzas mediante la solución de Boussinesq para un medio semi-infinito .....	8
2.1.1 Citometría de tracción por transformada de Fourier.....	9
2.2 Regularización de la solución .....	10
2.2.1 Regularización por descomposición en valores singulares: .....	10
2.2.2 Regularización de Tikhonov .....	11
2.2.2.1 Método de la curva L (L-Curve).....	12
2.3 Aplicación de redes neuronales a la solución del problema inverso:.....	13
2.3.1 Aplicación: .....	15
2.4 Reducción de modelos .....	16
<b>3. Propuesta de un método para la resolución del problema</b> .....	<b>19</b>
3.1 Caso de material elástico, lineal, homogéneo e isótropo:.....	20
3.2 Caso de material elástico, no-lineal, homogéneo e isótropo: .....	22
<b>4. Ejemplos de aplicación del método propuesto</b> .....	<b>23</b>
4.1 Ejemplo de aplicación a un problema elástico lineal en configuración 2D.....	23
4.2 Ejemplo de aplicación para un caso con material elástico no-lineal en configuración 2d: .....	25
4.3 Ejemplo de aplicación del método propuesto para la resolución del problema inverso en un medio lineal en configuración semi-3D:.....	30
4.4 Aplicación del método propuesto para la resolución del problema inverso en un medio elástico no-lineal en configuración semi-3D :.....	38
4.5 Aplicación del método propuesto para la resolución del problema inverso en un medio elástico lineal en configuración 3D.....	41
4.6 Aplicación del método propuesto para la resolución del problema inverso en un medio elástico no-lineal en configuración 3D.....	43
<b>5. Comparación de los diferentes métodos:</b> .....	<b>47</b>
5.1 Recuperación de las fuerzas con aproximación de mínimos cuadrados y solución de Boussinesq en configuración 2D .....	47
5.2 Recuperación de las fuerzas con FTTC y configuración elástico lineal 2D: .....	48





<b>6. Análisis del coste computacional .....</b>	<b>50</b>
<b>7. Conclusiones .....</b>	<b>51</b>
<b>Anexo I: Ejemplo de aplicación de redes neuronales. ....</b>	<b>53</b>
<b>Anexo II: Determinación de las funciones de densidad de energía de deformación para los hidrogeles. .....</b>	<b>56</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>64</b>

*“No basta saber, se debe también aplicar.*

*No es suficiente querer, se debe también hacer.”*

*Goethe*

## 1. Introducción

En los últimos años se ha conocido la importancia que las fuerzas ejercidas por las células tienen sobre muchos procesos celulares como la adhesión y la migración (de gran importancia en procesos como la angiogénesis, embriogénesis, curación de heridas, inflamación...) (Hersén and Ladoux, 2011; Yang et al., 2006).

El movimiento de las células y su relación con las adyacentes está influido por las fuerzas tractivas que realizan. De igual manera que un escalador prueba diferentes apoyos antes de avanzar en su ascensión y elige aquel que le ofrece una mayor seguridad (aquel que es capaz de proporcionarle una mayor reacción) una célula sentirá el medio que la rodea ejerciendo fuerzas tractivas y se desplazará hacia aquel lugar en el que las reacciones sean mayores. Por tanto, medir las fuerzas tractivas que ejercen las células sobre los sustratos es una herramienta crítica para la comprensión de procesos fisiológicos y patológicos tanto a nivel de tejido como de órgano (*Wang and Li, 2007*)

El primer paso para obtener las fuerzas que ejercen las células es obtener los desplazamientos que generan sobre los sustratos. Para ello se establecen diversas técnicas como:

- CPGC (Cell-populated collagen gel) que mide las deformaciones de un disco de gel polimerizado en el que se han embebido las células. Permite medir fuerzas globales del conjunto de células embebidas pero no las fuerzas de cada una de las células. (*Wang and Li, 2007*)
- El método de la membrana de silicona elástica, en el que la célula crea arrugas sobre la membrana al ejercer la fuerza. Se estiman dichas fuerzas midiendo con una aguja flexible micrométrica la fuerza que hemos de aplicar para devolver el sustrato a su estado original. (*Wang and Li, 2007*)
- Force Sensor Array (matriz sensora de fuerzas) que permite obtener las fuerzas celulares en un único eje mediante la flexión de vigas micrométricas colocadas en voladizo. (*Wang and Li, 2007*)
- Microscopía por fuerzas de tracción (Traction Force Microscopy, en adelante TFM), la técnica más popular hoy en día, que se compone de tres pasos. En primer lugar se fabrica el sustrato con partículas fluorescentes embebidas. Se

- colocan las células y se les permite que ejerzan fuerzas. Cuanto mayor sea la rigidez del sustrato, mayores serán las fuerzas de tracción que ejerza la célula pero los desplazamientos serán menores lo que dificultará determinar los desplazamientos. La elección del sustrato es por tanto crítica. Se toma una imagen del sustrato o andamio cargado. Se eliminan las células y se toma otra nueva imagen, en este caso del estado descargado. Los desplazamientos del sustrato se obtienen por correlación de las posiciones de las distintas partículas embebidas (de forma análoga a como se realiza en la velocimetría por imagen de partículas, PIV)

La obtención de las fuerzas a través de los desplazamientos es un problema inverso mal condicionado. Un problema está mal condicionado si no cumple alguna de las siguientes restricciones (*Hadamard, 1923*):

1. Existencia de solución
2. Unicidad de solución
3. Estabilidad de la solución

Para el problema propuesto, medir las fuerzas de tracción que ejercen las células sobre los sustratos, la existencia y unicidad de la solución están garantizadas por la teoría de la elasticidad, no así la estabilidad.

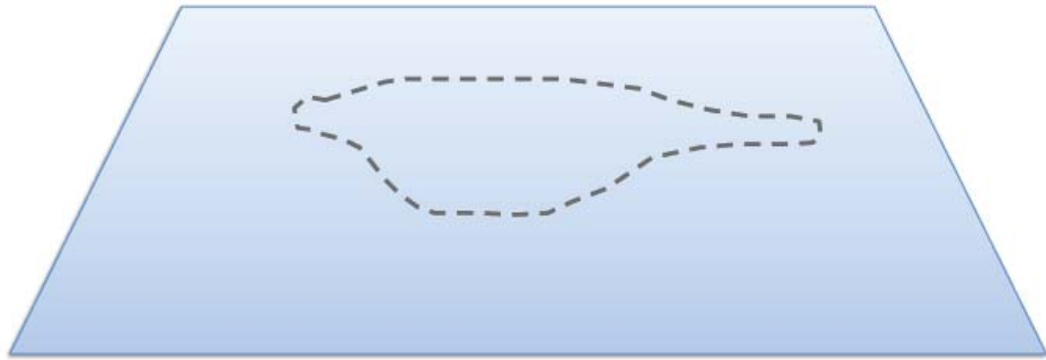
El problema de la estabilidad es crítico porque los datos de los desplazamientos se caracterizan por tener un ruido inherente a los procesos propios del método de determinación (obtención de la imagen, reconocimiento...). El tratamiento del ruido se puede hacer bien aplicando un filtrado a los datos, bien mediante regularización de la solución o ambos. La ventaja que introduce el método de los elementos finitos es que permite obtener una solución para el campo de desplazamientos en principio tan buena como se desee con la ventaja de no tener ruido. Esto nos permitirá hacer un tratamiento más sencillo y preciso de los datos.

La técnica actual más habitual para recuperar las fuerzas celulares consiste en aprovechar la solución teórica de Boussinesq (*Boussinesq, 1885*). Ésta tiene, sin embargo, dos limitaciones. En primer lugar la geometría ha de ser semi-infinita y en segundo lugar el material ha de ser elástico lineal. Ninguna de estas dos hipótesis se

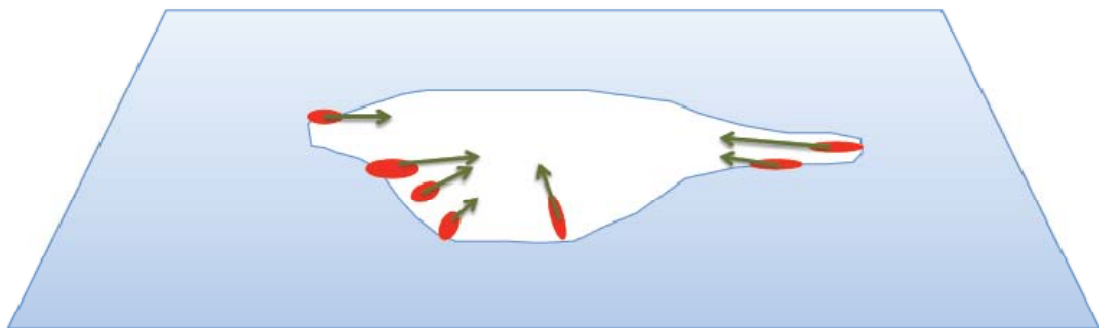
satisfacen puesto que se usan espesores relativamente pequeños para los sustratos y, además, el sustrato está fabricado con hidrogeles que exhiben un comportamiento elástico no lineal y cuasi-incompresible. (Wang and Li, 2007)

## 1.1 Objetivos

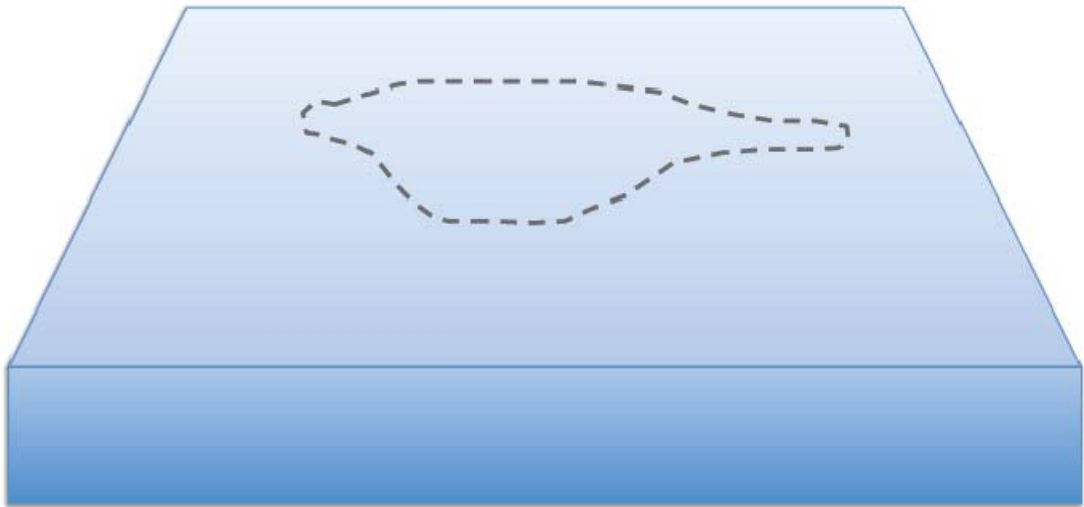
El objetivo principal de este trabajo consiste en obtener un método numérico que permita obtener las fuerzas ejercidas por las células sobre un sustrato. Se estudiará el caso de material lineal y de material no lineal. Las configuraciones geométricas incluirán 2D (Figuras 1 y 2), semi-3D (Figuras 3 y 4) y 3D (Figura 5).



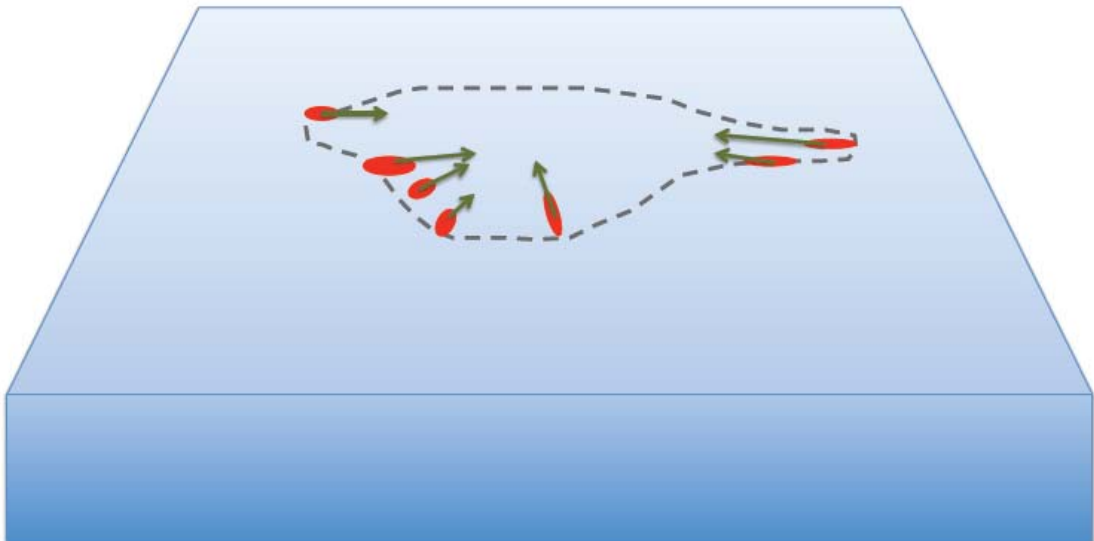
*Figura 1. Configuración geométrica 2D*



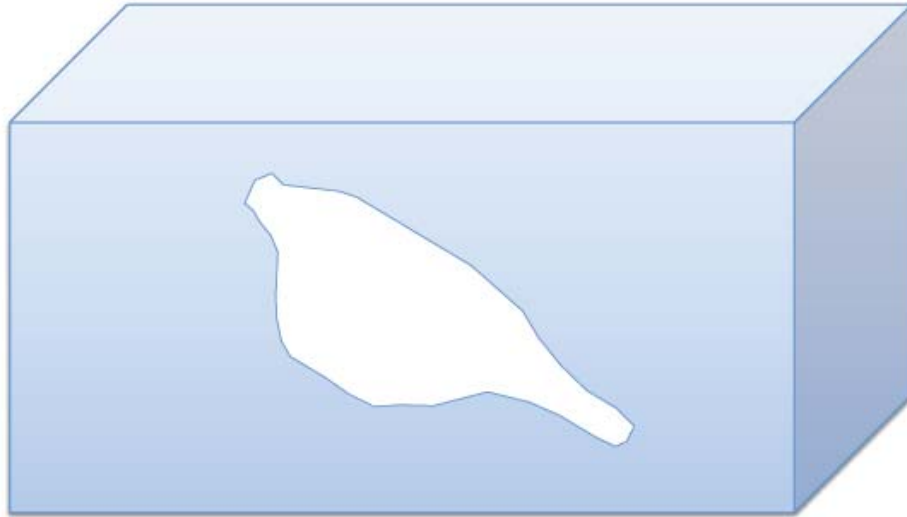
*Figura 2. Configuración 2D, sólo hay desplazamientos y fuerzas en el plano.*



*Figura 3. Configuración geométrica semi 3D*



*Figura 4. Caso semi-3D. La célula está sobre el plano pero se tienen en cuenta fuerzas y desplazamientos en las tres dimensiones.*



*Figura 5. Caso 3D. La célula está embebida en el sustrato. Se tienen en cuenta desplazamientos y fuerzas en las tres direcciones. La célula representa un discontinuidad dentro del material lo que obliga a tener en cuenta efectos de borde.*

Se presentarán resultados de los distintos métodos propuestos y se analizarán brevemente las distintas técnicas utilizadas en la actualidad para la resolución de problemas inversos: Redes neuronales, usadas ampliamente en robótica (Tejomurtula y KaK, 1998) pero no utilizado en la actualidad para la recuperación de fuerzas celulares, reducción de modelos usada en problemas eléctricos, térmicos (Bechtold et al., 2005) y la solución de Boussinesq para el problema de recuperación de las fuerzas celulares (Butler et al., 2002) comentando sus ventajas y desventajas para el problema tratado. Para ello se utilizarán ABAQUS 6.9 y Matlab 2011 como herramientas para la obtención y análisis de los datos.



## 2. Estado del arte en la resolución de problemas inversos

### 2.1. Recuperación de las fuerzas mediante la solución de Boussinesq para un medio semi-infinito

Una posible solución al problema de recuperar las fuerzas de tracción que ejercen las células utilizando la solución de Boussinesq fue sugerida por Butler et al. en 1998.

La solución de Boussinesq trata de buscar una solución en desplazamientos de un sólido semi-infinito al que se somete a cargas puntuales. La aplicación de esta aproximación está limitada a medios semi-infinitos (en la práctica que sean suficientemente gruesos), elástico-lineales e isótropos. Otra de las condiciones que ha de satisfacer esta solución es que en puntos muy alejados de las zonas de aplicación de las fuerzas (teóricamente en el infinito) los desplazamientos y las tensiones sean nulos de forma que se satisfaga el principio de Saint-Venant. Bajo estas hipótesis, podemos derivar (*Landau&Lifschitz, 1986*) a partir de la ecuación de equilibrio

$$\sigma_{ij,j} + F_i = 0$$

un tensor de Green tal que:

$$u_i = G_{ik} \cdot F_k$$

Los desplazamientos en cada punto se pueden calcular como el tensor de Green multiplicado por el vector de fuerzas en dicho punto. Obtener los desplazamientos parece directo. Bastaría con invertir la matriz G en los puntos en los que la célula pudiera generar fuerzas de tracción. Sin embargo en los puntos en los que se aplican las fuerzas aparecen tensiones infinitas y por tanto también singularidades en los desplazamientos. Una posible solución a este problema consiste en integrar el tensor en pequeñas áreas sobre las que se aplican las fuerzas (*Huang et al.,2009*)

El tensor G expresado en coordenadas cartesianas tiene la siguiente forma:

$$G_{ijk} = \frac{1}{4\pi\mu} \begin{bmatrix} \frac{b}{r} + \frac{x^2}{r^3} - \frac{ax^2}{r(r+z)^2} - \frac{az}{r(r+z)} & \frac{xy}{r^3} - \frac{axy}{r(r+z)^2} & \frac{xz}{r^3} - \frac{ax}{r(r+z)} \\ \frac{yx}{r^3} - \frac{ayx}{r(r+z)^2} & \frac{b}{r} + \frac{y^2}{r^3} - \frac{ay^2}{r(r+z)^2} - \frac{az}{r(r+z)} & \frac{yz}{r^3} - \frac{ay}{r(r+z)} \\ \frac{zx}{r^3} + \frac{ax}{r(r+z)} & \frac{zy}{r^3} + \frac{ay}{r(r+z)} & \frac{b}{r} + \frac{z^2}{r^3} \end{bmatrix}$$

donde  $\mu$  es el módulo de rigidez y los coeficientes  $a$  y  $b$  se calculan como:

$$a = 1 - 2\nu$$

$$b = 2(1 - \nu) = a + 1$$

Las ventajas de este método son:

- Sencillez de aplicación
- No es necesario utilizar programas de elementos finitos

Los inconvenientes:

- Aplicable solamente a medios elástico-lineales e isótropos
- Aplicable a medios semi-infinitos (en la práctica muy gruesos)
- Inestabilidad propia de la inversión de matrices con condicionamiento elevado

### 2.1.1 Citometría de tracción por transformada de Fourier.

La Citometría de tracción por Transformada de Fourier (*Fourier Transform Traction Cytometry*) o FTTC por sus siglas en inglés, se basa en el teorema de Faltung o teorema de la convolución, que determina que la transformada de Fourier de la convolución es el producto de las transformadas de Fourier de las funciones convolucionadas (*Butler et al., 2002*). El problema se convierte entonces en obtener el vector de cargas  $f$

$$U_{Reales} = K \cdot f$$

pero ahora  $K$ , en el espacio de Fourier, es diagonal por lo que su inversión es directa. Para que sea posible aplicar FTTC es necesario que la información sobre los desplazamientos forme una malla periódica. Para conseguirlo se discretiza la imagen en pequeños cuadrados de los que se obtiene la velocidad media. Esta aproximación introduce un cierto ruido que es inherente al método. Realizando un número suficiente

de iteraciones esta metodología es capaz de obtener un resultado en el que tan solo haya fuerzas en el dominio de la célula.

## 2.2 Regularización de la solución

Los métodos estudiados para resolver el problema inverso propuesto tienen en común la necesidad de resolver uno o varios sistemas de ecuaciones:

$$A \cdot x = b$$

Dado que el problema inverso es un problema mal condicionado (Hadamard 1923, Tikhonov and Arsenin 1977, Payne 1974, Romanov 1987) hemos de preguntarnos si la solución al problema existe, si es única y si es estable. La existencia y unicidad de solución quedan demostradas por la teoría de la elasticidad pero la estabilidad de la solución plantea algunos problemas.

El condicionamiento de la matriz A suele ser muy grande lo que significa que la sensibilidad de la solución ante perturbaciones de alguno de los datos es muy alta. Esto no resultaría un problema si fuéramos capaces de obtener datos exactos, exentos de cualquier tipo de ruido. Lamentablemente no es así. Las técnicas experimentales de adquisición de datos y los posteriores tratamientos numéricos de los mismos introducen una serie de errores que pueden desviar los datos con los que se trabaja de los reales. Por lo que cabe esperar que la resolución del sistema lineal nos conduzca a una solución alejada de la real. Para solventar este problema hemos de recurrir a la regularización, cuya idea general se puede entender de dos formas equivalentes:

1. Penalizar aquellas soluciones cuya norma sea muy grande
2. Inducir soluciones cuya norma tienda a la esperada.

Analizaremos dos métodos de regularización. En primer lugar la descomposición en valores singulares (SVD, *singular value decomposition*) y en segundo la regularización de Tikhonov.

### 2.2.1 Regularización por descomposición en valores singulares:

La idea se basa en que los valores singulares de menor valor son los causantes del ruido, que genera grandes errores en la solución *naive* ya que el error en las

direcciones correspondientes a los valores singulares más pequeños se magnifica imponiéndose sobre la información contenida en las direcciones de los valores singulares mayores (*Hansen, O'Leary, 1993*)

$$x = A^{-1} \cdot b$$

Esta aproximación es equivalente a la reducción de modelos y por tanto comparte sus mismos inconvenientes: alto coste computacional (  $O(n^3)$  ) que hace inviable su uso en sistemas muy grandes .

### 2.2.2 Regularización de Tikhonov

La idea consiste en obtener un equilibrio entre la regularización y una buena aproximación.

La solución de Tikhonov  $x_\lambda$  se define como la solución del siguiente problema:

$$\min \left( \|A \cdot x - b\|^2 + \lambda^2 \cdot \|x\|^2 \right)$$

El parámetro  $\lambda$  óptimo es desconocido a priori y suele determinarse para cada problema con un método *ad hoc*. Una aproximación posible consiste en la validación cruzada o el método de la curva L.

La validación cruzada consiste en dividir en dos conjuntos complementarios los datos de muestra, realiza el análisis de uno de los subconjuntos (subconjunto de prueba o test) y validar el análisis en el otro subconjunto de forma que la aproximación solo se ajuste al conjunto test. A continuación se calculan los valores de salida para el conjunto de datos que no se había analizado antes.

Una mejora de este método consiste en la validación cruzada de K iteraciones (*K-fold cross-validation*). Uno de los subconjuntos se utiliza como datos de prueba y el resto (K-1) como datos de entrenamiento. El proceso de validación cruzada se repite durante k iteraciones, con cada uno de los posibles subconjuntos de datos de prueba. Finalmente se realiza la media aritmética de los resultados de cada iteración para obtener un único resultado. Este método es muy preciso puesto que evaluamos a partir

de  $K$  combinaciones de datos de entrenamiento y de prueba, pero tiene una desventaja, y es que, a diferencia del método anterior, es lento desde el punto de vista computacional. A la práctica, la elección del número de iteraciones depende de la medida del conjunto de datos. Lo más común es utilizar la validación cruzada de 10 iteraciones (*10-fold cross-validation*).

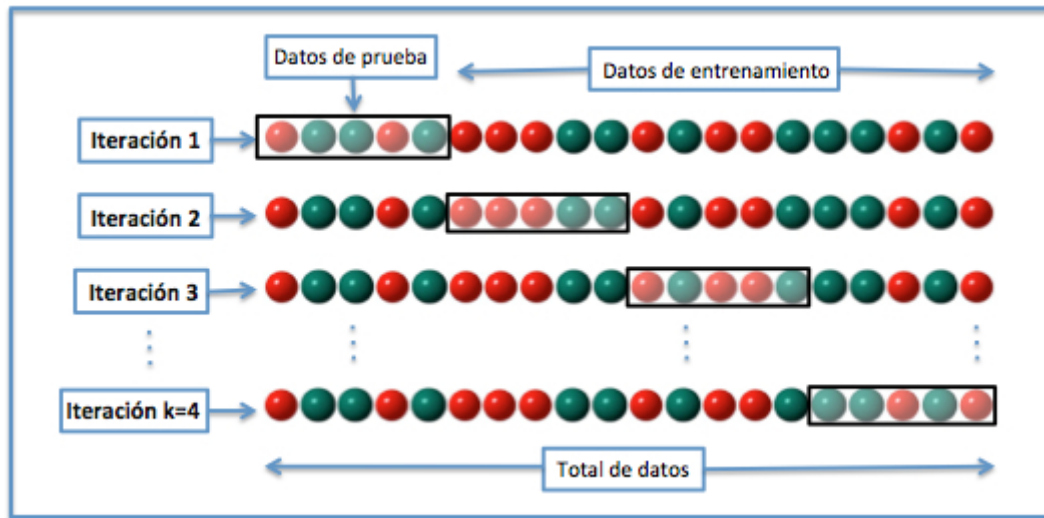


Figura 6. Proceso de validación cruzada.(Web01)

#### 2.2.2.1 Método de la curva $L$ ( $L$ -Curve)

La curva  $L$  (Figura 7) es un diagrama paramétrico de  $\rho(\lambda)$  y  $\eta(\lambda)$  que representan la norma de la solución regularizada y de su residuo. La idea subyacente es que un buen método para elegir el parámetro de regularización para problemas mal condicionados debe incorporar información sobre la norma de la solución además de sobre la norma del residuo. Este concepto se introduce de forma natural ya que estamos buscando una solución que mantenga ambas normas reducidas.

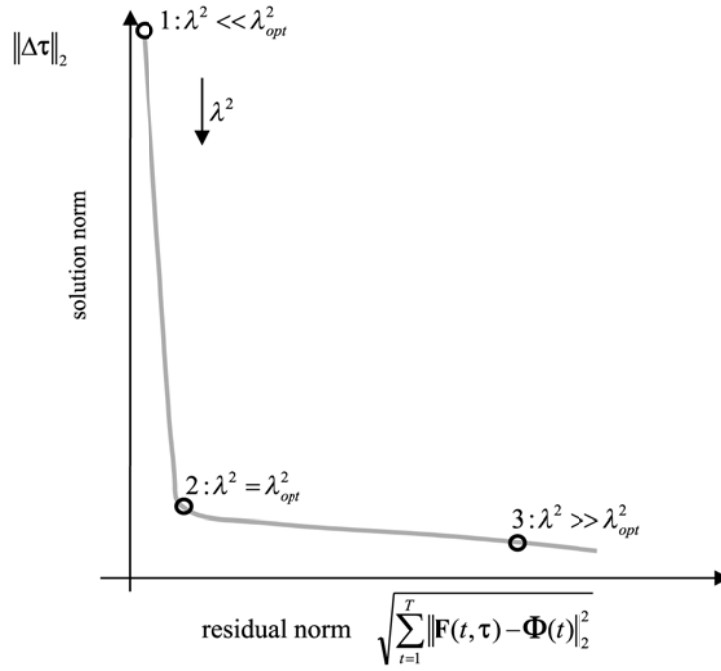


Figura 7. Curva L típica

La curva L tiene una forma en L característica en la zona donde la solución  $x_\lambda$  pasa de estar dominada por errores en la regularización (sobresuavizado) a estar dominada por los errores del vector de cargas. Por tanto la esquina de la curva L corresponde a un buen equilibrio entre la minimización de las normas y representa, por tanto, un parámetro  $\lambda$  adecuado.

### 2.3 Aplicación de redes neuronales a la solución del problema inverso:

Las redes neuronales tienen una gran habilidad para extraer información de conjuntos de datos complejos y se pueden para obtener tendencias o patrones que por su complejidad no pueden ser detectados por el humano o por otras técnicas computacionales. Una red neuronal se puede entender como un “experto” en el campo de información en el que ha sido entrenada.

Las redes neuronales atacan desde un ángulo distinto el problema a resolver que los algoritmos convencionales. La aproximación algorítmica consiste en seguir un conjunto de instrucciones para resolver el problema. Si los pasos específicos para resolver el problema no son conocidos el algoritmo es incapaz de resolver el problema. Por tanto, la capacidad de resolver problemas queda restringida a problemas que entendemos completamente y que sabemos exactamente como resolver.

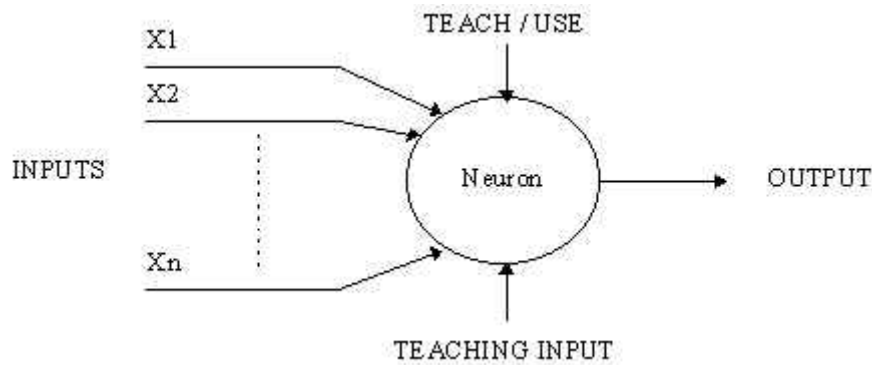


Figura 8. Ejemplo de funcionamiento de una neurona (Web02)

Una neurona (Figura 8) es un sistema con una o más entradas y una salida. La neurona tiene dos modos de operación; el modo de entrenamiento y el modo de uso. En el modo de entrenamiento la neurona puede ser entrenada para activarse (o no) para un tipo particular de patrón. En el modo de uso, cuando se detecta un patrón aprendido, la salida asociada se activa. Si el patrón detectado no pertenece a la lista de patrones reconocidos, la regla de activación se usa para determinar el output.

Las redes neuronales (Figura 9) procesan la información de una forma similar a la que lo hace el cerebro humano. La red está compuesta por un alto número de elementos de procesamiento (en adelante neuronas) que trabajan en paralelo para resolver un problema específico. Las redes neuronales aprenden usando ejemplos que han de ser seleccionados cuidadosamente para no desperdiciar tiempo ni para inducir “conductas” erróneas de la red.

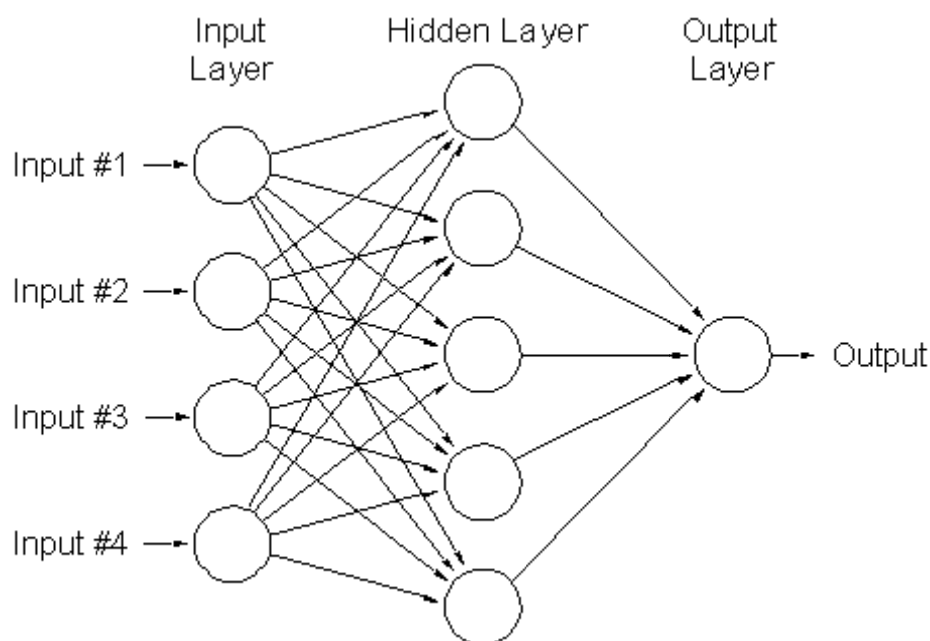


Figura 9. Red neuronal sencilla (Web02)

MatLab ofrece un completo *toolbox* para trabajar con redes neuronales de forma sencilla e intuitiva por lo que será el programa elegido para su aplicación.

### 2.3.1 Aplicación:

Aunque las redes neuronales se usan en áreas como la robótica para resolver los problemas de cinemática, no hay referencias bibliográficas sobre su uso en el problema de obtener las fuerzas de tracción que las células ejercen.

Los posibles puntos de aplicación de fuerzas son bien conocidos, el dominio de la célula para el caso 2D y el contorno de la misma para 3D. Podemos plantearnos entonces un conjunto de casos con los que entrenar a la red neuronal con los parámetros de entrada los desplazamientos en cada uno de los puntos y con parámetros de salida las fuerzas aplicadas por las células.

Estos casos provendrían en un caso óptimo de experimentos en los que las fuerzas quedaran perfectamente determinadas o de simulaciones con programas de elementos finitos. Dado que el primer método resulta complicado, lento y costoso nos centraremos en el segundo. El procedimiento a seguir sería:



1. Lanzar un número suficiente de casos con distintas fuerzas distribuidas en las zonas en las que es posible aplicar fuerzas.
2. Entrenar y validar la red con los casos en los que se conocen las fuerzas y los desplazamientos
3. Introducir a la red ya entrenada los datos reales para obtener los resultados.

En el Anexo I se muestra un ejemplo de aplicación de las redes neuronales a la resolución del problema de recuperar las fuerzas de tracción que ejercen las células sobre el sustrato o andamio.

Como podemos observar las redes neuronales nos ofrecen un método sencillo para resolver problemas inversos pequeños. Cuando el problema es muy grande, tiene muchos grados de libertad (tiene muchos nodos si estamos utilizando elementos finitos) los requerimientos de memoria son muy altos y los tiempos de computación se alargan considerablemente, impidiendo realizar los cálculos con un ordenador convencional.

Las redes neuronales nos ofrecen otras ventajas. La importancia de cada uno de los datos viene dada por el peso correspondiente por lo que haciendo un análisis de los diferentes pesos que aparecen en la red entrenada podremos llegar a discernir qué grados de libertad aportan la información más necesaria y cuáles no aportan información importante. De esta forma podremos desprejar algunos nodos reduciendo el tamaño y las exigencias computacionales asociadas. Será equivalente a realizar una reducción de modelos como se verá a continuación. Ese estudio excede las pretensiones del presente trabajo representa un interesante vía de investigación que puede ayudar no sólo en la resolución del problema si no también en la fabricación y gestión de los experimentos de TFM.

#### *2.4 Reducción de modelos*

La cantidad de información que se extrae de los experimentos de TFM es elevada ya que hay un gran número de partículas embebidas en el sustrato. Es fácil observar que el tamaño de las matrices con las que trabajaremos será muy grande incluso cuando nuestro mallado (de elementos finitos o de partículas) sea relativamente

pequeño. Si el mallado tiene ‘n’ nodos, aplicamos ‘f’ fuerzas test sobre ‘m’ nodos en los que la célula pueda aplicar fuerzas, la matriz  $U_{\text{unitario}}$  tendrá dimensiones:  $n \times (f \cdot k)$  y el sistema lineal a resolver constará de  $f \cdot k$  ecuaciones.

Se puede intuir que si no tenemos en cuenta los desplazamientos de las zonas más alejadas los resultados no variarán en exceso, sin embargo, es difícil decidir a priori a partir de que distancia al punto de aplicación podemos despreciar los desplazamientos. En caso de ser excesivamente optimistas y eliminar muchos puntos en los que conocemos los desplazamientos estaremos trabajando con un campo de desplazamientos que posiblemente no sea unívoco.

Una de las técnicas que nos puede ayudar a discriminar qué desplazamientos son los que más información nos aportan y, por tanto, decidir cuales podemos eliminar, es la reducción de modelos.

La idea fundamental de la reducción de modelos se basa en el hecho de que no siempre es preciso conocer con precisión todas las incógnitas de nuestro modelo- Nos preguntamos entonces si podemos disminuir los modos propios (de vibración, de movimiento, de flujo...) de nuestro problema con la finalidad de disminuir el coste computacional y de memoria consiguiendo una descripción adecuada del mismo. Trataremos de convertir un conjunto de variables con una (probable) alta correlación en un conjunto de variables no correladas menor.

Se puede aplicar la reducción de modelos a la solución del problema de obtener los desplazamientos con un programa de elementos finitos lo que conduce a introducir menos nodos y/o menos elementos. En general no es necesario aplicar esta técnica a priori. La experiencia y el principio de Saint-Venant hacen que obtener una solución suficientemente buena no exija unos costes computacionales exagerados. Además, la disposición de las partículas embebidas en el hidrogel del experimento supone una restricción muy fuerte sobre la malla que sería difícil de incluir en las ecuaciones propias del método.

Se analizará a continuación la aplicación de la metodología de reducción de modelo a la obtención de las fuerzas.

La reducción de modelos se basa en el hecho de que podemos obtener unos valores y vectores propios de una matriz cuya interpretación física son la importancia de un modo propio (autovalor) y el modo propio asociado (autovector). Hasta aquí el problema y la técnica es equivalente obtener los modos propios y frecuencias propias de vibración de un sólido deformable. De igual forma que para el estudio de frecuencias de resonancia o modos propios de vibración, se eligen unas ciertas frecuencias (autovalores) y se desprecia el resto, podemos elegir en nuestro caso los valores propios de mayor valor y los vectores propios asociados que determinarán los modos propios de desplazamiento más importantes, que describen mejor el movimiento.

El procedimiento operativo sería el siguiente:

1. Obtener los vectores y valores propios de la matriz  $(U_{Unitario}^T \cdot U_{Unitario})$ , obtener los vectores propios de la matriz  $(U_{Unitario} U_{Unitario}^T)$  ordenar los valores propios en la diagonal de una matriz
2. La matriz original se puede escribir como:

$$U_{Unitario} = W \cdot \Sigma \cdot V^T$$

Donde W es la matriz de vectores propios ordenados por columnas de  $U_{Unitario} U_{Unitario}^T$ ,  $\Sigma$  matriz rectangular con los valores propios en diagonal y V la matriz de vectores propios ordenados por columnas de  $U_{Unitario}^T \cdot U_{Unitario}$

Para obtener la nueva matriz de desplazamientos unitarios  $Y_{Unitario} = W_L^T \cdot U_{Unitario}$

La reducción de modelos no ofrece un buen comportamiento en los modelos ensayados. Su aplicación podría ser de ayuda para determinar la distancia mínima a la célula a la que los desplazamientos dejan de aportar suficiente información para determinar las fuerzas con precisión.

### 3. Propuesta de un método para la resolución del problema

Los experimentos de TFM se realizan en general sobre hidrogeles que exhiben un comportamiento elástico no lineal. Algunos autores (*Huang et al., 2009; Butler et al., 2002*) afirman que se puede considerar que el material se encuentra en régimen lineal. Aunque en las zonas más alejadas a la célula esta suposición será totalmente acertada (el principio de Saint-Venant asegura que a una distancia suficiente no se distinguen las tensiones/deformaciones creadas por singularidades), en las zonas más próximas a las zonas de aplicación de las fuerzas (que se consideran puntuales (*Schwarz et al., 2002*)) esta suposición será errónea en la mayoría de las aplicaciones. Recordemos de la teoría de elasticidad que las cargas puntuales son singularidades y que, por tanto, las tensiones y deformaciones son cuasi-infinitas. Se puede entender entonces que las tensiones serán altas en las zonas próximas a las adhesiones focales (zonas de aplicación de las fuerzas celulares) y por tanto nos encontraremos en un régimen no lineal.

No existe conocimiento certero sobre los lugares exactos en los que se puede ejercer fuerza cada tipo de célula. Para este estudio se supondrá que las fuerzas se pueden aplicar en toda la superficie ocupada por la célula, incluyendo su contorno. En las siguientes figuras (Figura 10 y 11) se observan algunas geometrías celulares obtenidas a través de métodos experimentales (las dimensiones están en micras).

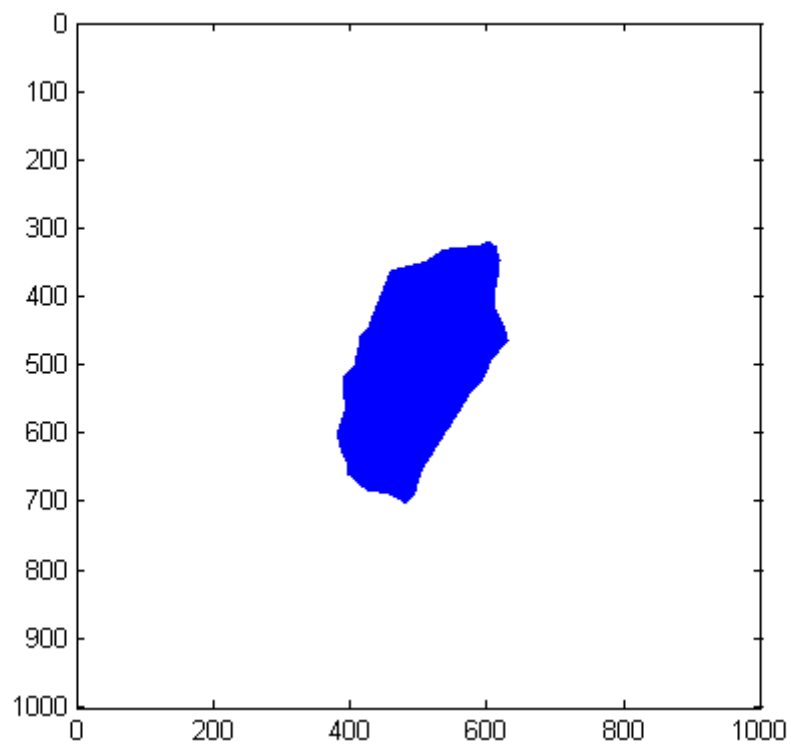


Figura 10. Ejemplo de geometría celular .

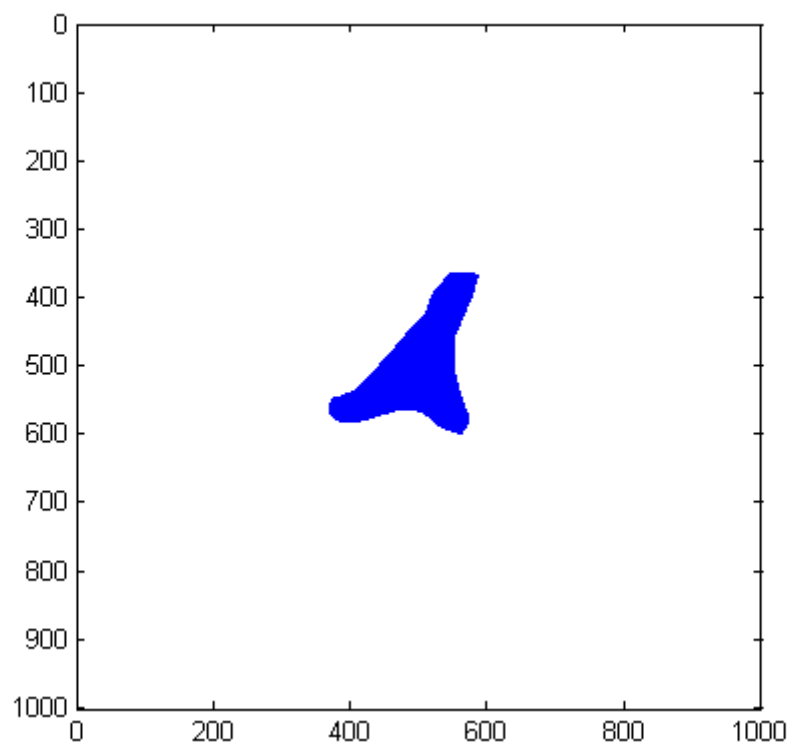


Figura 11. Ejemplo de geometría celular

En el caso tridimensional en el que la célula se encuentra inmersa en el medio, las fuerzas sólo se podrán ejercer en el contorno de la célula.

Para dar una mayor generalidad y campo de aplicación al método aquí desarrollado se estudiará el régimen puramente lineal y el no-lineal con comportamiento hiperelástico.

### 3.1 Caso de material elástico, lineal, homogéneo e isótropo:

En el caso de material elástico, lineal e isótropo el estado final del campo de desplazamientos se puede obtener como una suma de los causados por cada una de las adhesiones focales, es decir, el principio de superposición rige el problema.

Sea  $\tilde{u}$  el campo de desplazamientos medido experimentalmente y  $\tilde{t}$  el vector de fuerzas que ejerce la célula. Se propone como método de resolución obtener un campo de desplazamientos calculado mediante elementos finitos  $\tilde{u}_{i1}$  consecuencia de aplicar unas cargas  $\tilde{t}_{i1}$  (donde  $i$  representa la  $i$ -ésima componente del vector de cargas y 1 el número asociado al grado de libertad y cargas correspondiente) sobre cada uno de los puntos en los que la célula pudiera aplicar fuerzas. En el caso 2D en el dominio y su frontera (Figura 12).

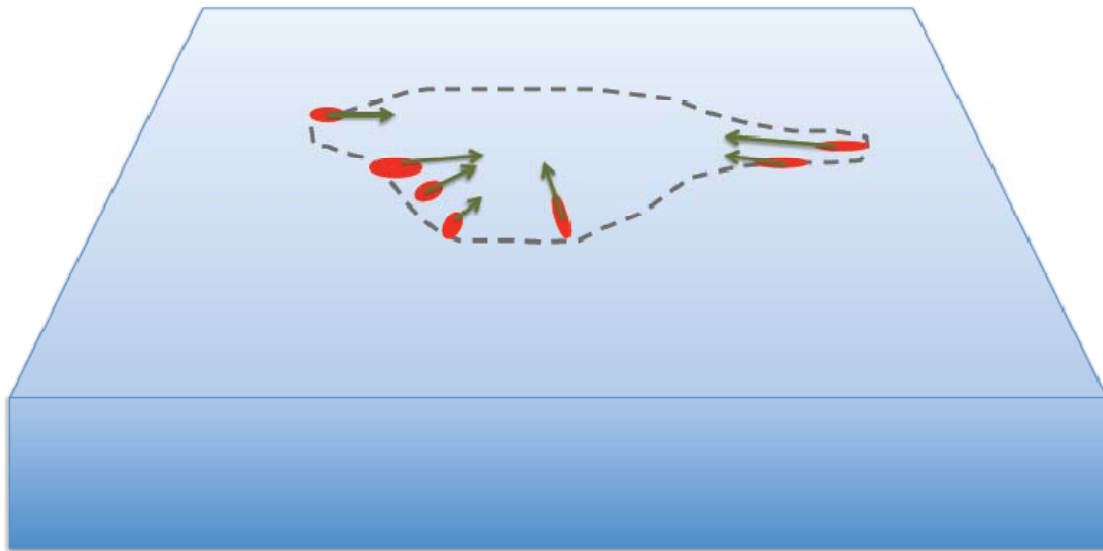


Figura 12. Puntos de aplicación de fuerzas en el caso 2D

En el caso 3D en la frontera (Figura 13)



Figura 13. Frontera de la célula. Puntos posibles de aplicación de fuerza

Agrupando los vectores  $\tilde{u}_{i1}$  podemos obtener una matriz  $\tilde{U}_{ij}$  que contenga por columnas los diferentes  $\tilde{u}_{i1}$ . Se aproximan los desplazamientos medidos  $\tilde{u}$  como sigue:

$$\tilde{u} \approx \tilde{U}_{ij} \cdot \alpha_i$$

y el vector de cargas por :

$$\tilde{r} \approx \alpha_i \cdot \tilde{r}_{i1}$$

Sea  $n$  el número de nodos de la malla de elementos finitos y  $m$  el número de nodos en los que es posible que la célula aplique fuerzas. Las dimensiones de los diferentes vectores serán:

$$\dim \tilde{u} = n \times 1$$

$$\dim \tilde{U}_{ij} = n \times m$$

$$\dim \alpha_i = m \times 1$$

Los coeficientes  $\alpha_i$  son la solución del siguiente problema de minimización:

$$\min \left\| \tilde{U}_{ij} \cdot \alpha_{i1} - \tilde{u} \right\|^2$$

La solución a dicho problema se puede calcular como:

$$\alpha_{i1} = (\tilde{U}_{ji} \cdot \tilde{U}_{ij})^{-1} \cdot (\tilde{U}_{ji} \cdot \tilde{u})$$

### 3.2 Caso de material elástico, no-lineal, homogéneo e isótropo:

Manteniendo la notación anteriormente descrita se propone como método de resolución obtener  $k$  campos de desplazamientos  $\tilde{u}_{ik}$  consecuencia de aplicar unas cargas  $\tilde{\tau}_{ik}$  sobre cada uno de los puntos en los que la célula pudiera aplicar fuerzas. Las diferentes fuerzas  $\tilde{\tau}_{ik}$  deberían ser de diferente magnitud (por ejemplo: 1, 10, 100nN) para que el comportamiento no-lineal del material se viera reflejado sobre los campos de desplazamientos de aproximación. De manera análoga al caso lineal y sin perder generalidad aproximaremos el campo de desplazamientos  $\tilde{u}$  como:

$$\tilde{u} \approx \alpha_i \cdot \tilde{u}_{i1} + \beta_i \cdot \tilde{u}_{i2} + \dots + \zeta_i \cdot \tilde{u}_{ik}$$

El vector de cargas:

$$\tilde{\tau}_{ik} \approx \alpha_i \cdot \tilde{\tau}_{i1} + \beta_i \cdot \tilde{\tau}_{i2} + \dots + \zeta_i \cdot \tilde{\tau}_{ik}$$

Ordenando los  $k$  campos de desplazamientos asociados a cada uno de los  $m$  puntos por columnas obtenemos la matriz  $\tilde{U}_{ij}$ , ( $\dim \tilde{U}_{ij} = n \times (mk)$ ). Expresando esta aproximación en forma matricial:

$$\tilde{u} \approx \tilde{U}_{ij} \cdot x_i$$

Los coeficientes  $x_i$  se obtienen resolviendo el siguiente problema de minimización:

$$\min \left\| \tilde{U}_{ij} \cdot \tilde{x}_i - \tilde{u} \right\|^2$$

cuya solución se puede obtener como:

$$x_i = (\tilde{U}_{ji} \cdot \tilde{U}_{ij})^{-1} \cdot (\tilde{U}_{ji} \cdot \tilde{u})$$



#### 4. Ejemplos de aplicación del método propuesto

##### 4.1 Ejemplo de aplicación a un problema elástico lineal en configuración 2D

A continuación se expone un caso sobre una geometría 2D y material con comportamiento lineal en el que, para un campo de desplazamientos dados (generados con elementos finitos), se recuperan las fuerzas.

Propiedades del material (*Sabass et al., 2008*)::

Módulo de Young: 70kPa

Módulo de Poisson: 0,5

Espesor: 75 $\mu$ m

Se colocan fuerzas test unitarias sobre los puntos en los que se supone que la célula puede aplicar fuerzas (adhesiones focales).

Para evaluar la bondad del método se introducirán fuerzas de magnitud conocida que se intentarán recuperar en diferentes lugares de aplicación. Se seguirán las siguientes reglas para aplicar las fuerzas:

- Las fuerzas resultantes apuntarán hacia el centroide la célula
- Se tendrán en cuenta casos en los que las adhesiones focales estén muy cerca unas de otras con fuerzas de magnitud parecida y de magnitud muy diferente para evaluar si el método es capaz de discriminar las fuerzas.

La siguiente imagen (Figura 14) muestra los lugares de aplicación de las fuerzas

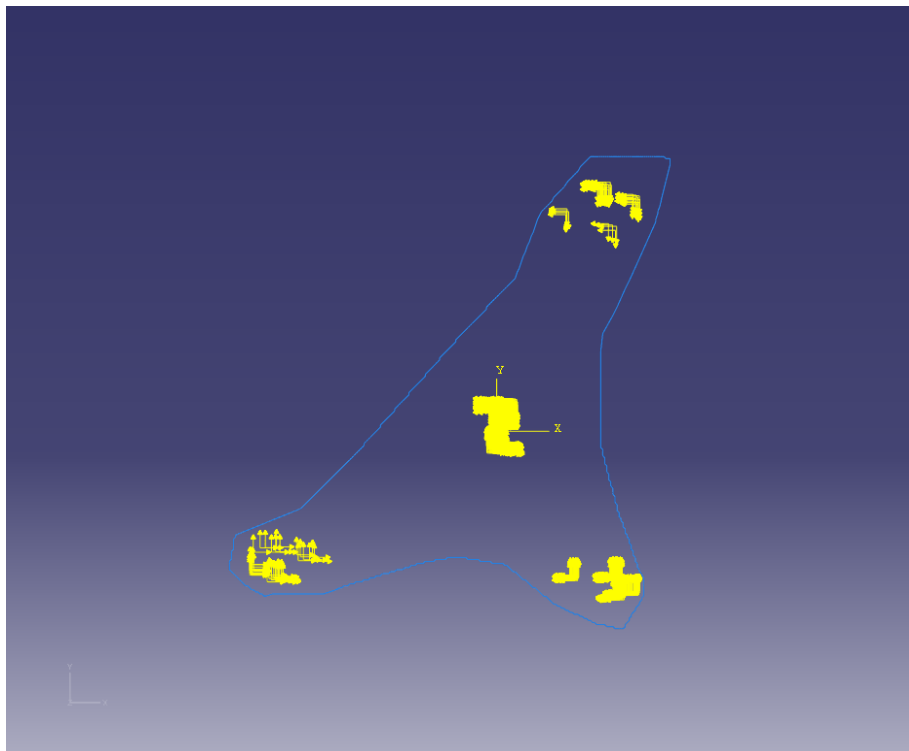


Figura 14. Posible distribución de adhesiones focales sobre la célula.

En la Tabla 1 se muestran las fuerzas aplicadas, las fuerzas recuperadas y los errores relativos y absolutos.

Tabla 1. Resultados aplicación a material lineal

Fuerzas	Fuerza Real	Error(%)	Error
1.000E+01	1.000E+01	1.407E-08	1.407E-09
1.500E+01	1.500E+01	2.013E-07	3.019E-08
8.000E+00	8.000E+00	7.245E-09	5.796E-10
1.000E+01	1.000E+01	5.530E-08	5.530E-09
1.500E+01	1.500E+01	4.175E-08	6.262E-09
6.000E+00	6.000E+00	5.903E-07	3.542E-08
1.000E+01	1.000E+01	8.934E-08	8.934E-09
1.000E+01	1.000E+01	5.593E-07	5.593E-08
-7.000E+01	-7.000E+01	1.567E-08	1.097E-08
7.000E+01	7.000E+01	7.234E-09	5.063E-09
-1.000E+02	-1.000E+02	5.700E-11	5.700E-11
1.000E+02	1.000E+02	9.947E-09	9.947E-09
-1.500E+02	-1.500E+02	1.594E-09	2.391E-09
1.000E+02	1.000E+02	9.987E-09	9.987E-09
-1.200E+02	-1.200E+02	1.423E-08	1.708E-08
1.500E+02	1.500E+02	2.555E-09	3.832E-09
-3.000E+01	-3.000E+01	6.291E-09	1.887E-09
-3.000E+01	-3.000E+01	5.830E-08	1.749E-08
-4.000E+01	-4.000E+01	8.747E-09	3.499E-09
-3.000E+01	-3.000E+01	2.534E-08	7.602E-09
-6.000E+00	-6.000E+00	5.803E-09	3.482E-10
-5.000E+00	-5.000E+00	1.010E-07	5.048E-09
-2.000E+01	-2.000E+01	8.712E-09	1.742E-09
-2.000E+01	-2.000E+01	1.996E-08	3.991E-09
1.000E+02	1.000E+02	1.425E-10	1.425E-10
1.000E+02	1.000E+02	5.323E-10	5.323E-10
-1.000E+02	-1.000E+02	1.016E-10	1.016E-10
-5.000E+01	-5.000E+01	7.568E-10	3.784E-10

Los errores cometidos en la recuperación de fuerzas son prácticamente despreciables para el caso lineal.

#### 4.2 Ejemplo de aplicación para un caso con material elástico no-lineal en configuración 2d:

A continuación se expone un caso sobre una geometría 2D y material no-lineal en el que, para un campo de desplazamientos dados (generados con elementos finitos), se recuperan las fuerzas .

Propiedades del material:

El material utilizado como sustrato es un hidrogel con una concentración de colágeno del 1% y una concentración de agarosa del 1% que tiene las siguientes propiedades elásticas (cortesía de los colaboradores del CEIT):

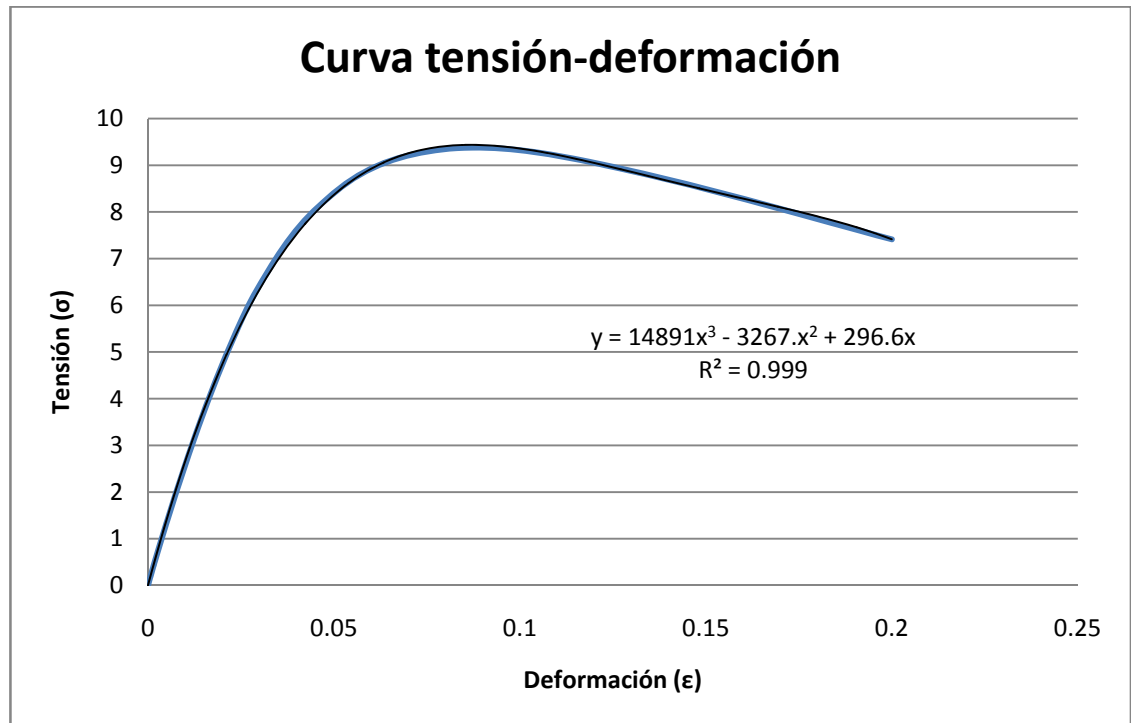


Figura 15. Curva tensión nominal (kPa)-deformación nominal del sustrato

La relación tensión-deformación es claramente no lineal. La función de densidad de energía de deformación (obtenida en el Anexo II), basándonos en el modelo de Mooney Rivlin es:

$$W = -1640.47 \cdot (I_1 - 3) + 2061.55 \cdot (I_2 - 3)$$

El espesor del sustrato es 75  $\mu\text{m}$

A continuación (Tabla 2) se muestran las fuerzas aplicadas, las fuerzas recuperadas y los errores relativos y absolutos.

Tabla 2. Resultados aplicación a material no-lineal

Fuerzas	Fuerzas	Error (%)	Error
8.3059	10.0000	16.9412	1.6941
6.6329	15.0000	55.7806	8.3671
8.3446	8.0000	4.3070	0.3446
9.0144	10.0000	9.8556	0.9856
15.3243	15.0000	2.1619	0.3243
11.0049	6.0000	83.4157	5.0049
11.7621	10.0000	17.6207	1.7621
17.0272	10.0000	70.2724	7.0272
-65.9479	-70.0000	5.7887	4.0521
64.3331	70.0000	8.0956	5.6669
-100.0792	-100.0000	0.0792	0.0792
100.0215	100.0000	0.0215	0.0215
-120.3599	-120.0000	0.2999	0.3599
105.9737	100.0000	5.9737	5.9737
-121.7072	-120.0000	1.4227	1.7072
121.5791	120.0000	1.3159	1.5791
-28.1840	-30.0000	6.0533	1.8160
-30.9496	-30.0000	3.1654	0.9496
-43.8271	-40.0000	9.5677	3.8271
-29.4472	-30.0000	1.8426	0.5528
-7.4114	-6.0000	23.5235	1.4114
-9.7266	-5.0000	94.5318	4.7266
-13.9447	-20.0000	30.2764	6.0553
-16.6455	-20.0000	16.7725	3.3545
100.4988	100.0000	0.4988	0.4988
101.1503	100.0000	1.1503	1.1503
-101.4038	-100.0000	1.4038	1.4038
-51.4732	-50.0000	2.9465	1.4732

El error relativo promedio es del 16.97% y el error absoluto promedio  $\pm 2.58\text{nN}$ . Los campos de desplazamientos se han creado con fuerzas 1,10 y 100nN.

Se debe analizar si el esfuerzo de calcular un mayor número de campos de desplazamiento de prueba para tener en cuenta las propiedades no-lineales del material mejora sustancialmente la solución o si la suposición de material elástico lineal puede resultar apropiada.

Se analizarán dos casos. En el primero se tomará como módulo de Young el módulo tangente (Tabla 3) y en el segundo (Tabla 4) el secante.

Tabla 3. Resultados hipótesis módulo tangente

F Recuperadas (nN) E= Módulo tangente	Fuerzas Reales(nN)	Error %	Error Absoluto
18.5091	10.0000	85.0908	8.5091
5.2803	15.0000	64.7981	9.7197
9.1724	8.0000	14.6544	1.1724
4.8001	10.0000	51.9986	5.1999
19.6272	15.0000	30.8481	4.6272
-10.9374	6.0000	282.2893	16.9374
-1.0686	10.0000	110.6855	11.0686
0.2219	10.0000	97.7809	9.7781
-81.0192	-70.0000	15.7417	11.0192
105.1925	70.0000	50.2751	35.1925
-129.2080	-100.0000	29.2080	29.2080
113.2102	100.0000	13.2102	13.2102
-129.6704	-120.0000	8.0587	9.6704
79.2722	100.0000	20.7278	20.7278
-137.1378	-120.0000	14.2815	17.1378
247.5515	120.0000	106.2929	127.5515
-41.0774	-30.0000	36.9246	11.0774
59.8716	-30.0000	299.5721	89.8716
-51.1763	-40.0000	27.9407	11.1763
-26.1551	-30.0000	12.8165	3.8449
-5.3803	-6.0000	10.3278	0.6197
48.6059	-5.0000	1072.1183	53.6059
-22.5341	-20.0000	12.6705	2.5341
-270.3294	-20.0000	1251.6471	250.3294
118.9845	100.0000	18.9845	18.9845
303.8605	100.0000	203.8605	203.8605
-120.1536	-100.0000	20.1536	20.1536
-62.6798	-50.0000	25.3596	12.6798

En este caso el error relativo promedio sería 142.4% y el error absoluto promedio +- 36.05 nN.

Tabla 4. Resultados hipótesis módulo secante

F Recuperadas (nN) E= Módulo secante	Fuerzas Reales(nN)	Error %	Error Absoluto
15.3730	10.0000	53.7299	5.3730
4.3856	15.0000	70.7625	10.6144
7.6182	8.0000	4.7721	0.3818
3.9868	10.0000	60.1318	6.0132
16.3017	15.0000	8.6778	1.3017
-9.0842	6.0000	251.4031	15.0842
-0.8875	10.0000	108.8750	10.8875
0.1843	10.0000	98.1569	9.8157
-67.2917	-70.0000	3.8690	2.7083
87.3692	70.0000	24.8132	17.3692
-107.3156	-100.0000	7.3156	7.3156
94.0284	100.0000	5.9716	5.9716
-107.6997	-120.0000	10.2503	12.3003
65.8407	100.0000	34.1593	34.1593
-113.9018	-120.0000	5.0818	6.0982
205.6076	120.0000	71.3396	85.6076
-34.1174	-30.0000	13.7247	4.1174
49.7273	-30.0000	265.7576	79.7273
-42.5052	-40.0000	6.2631	2.5052
-21.7235	-30.0000	27.5884	8.2765
-4.4687	-6.0000	25.5214	1.5313
40.3704	-5.0000	907.4072	45.3704
-18.7160	-20.0000	6.4198	1.2840
-224.5261	-20.0000	1022.6305	204.5261
98.8243	100.0000	1.1757	1.1757
252.3758	100.0000	152.3758	152.3758
-99.7953	-100.0000	0.2047	0.2047
-52.0596	-50.0000	4.1192	2.0596

Tomando como rigidez el módulo secante se observa una ligera mejora de los resultados. El error relativo promedio pasa a ser el 116.16% y el absoluto promedio +- 26.2 nN.

Suponer que el material tiene un carácter lineal conduce a errores considerables en la recuperación de las fuerzas. El coste computacional de añadir más campos de desplazamientos test permite una mejora muy significativa de los resultados.

#### 4.3 Ejemplo de aplicación del método propuesto para la resolución del problema inverso en un medio lineal en configuración semi-3D:

A continuación se expone un caso sobre una geometría semi-3D y material lineal en el que, para un campo de desplazamientos dados (generados con elementos finitos), se recuperan las fuerzas

Propiedades del material (*Sabass et al., 2008*):

Módulo de Young: 70kPa

Módulo de Poisson: 0,5

Espesor: 75  $\mu\text{m}$

Se proponen varias zonas (adhesiones focales, Figura 16) en los que la célula podría hacer fuerza y se aplican fuerzas test de 1nN en cada uno de los ejes.

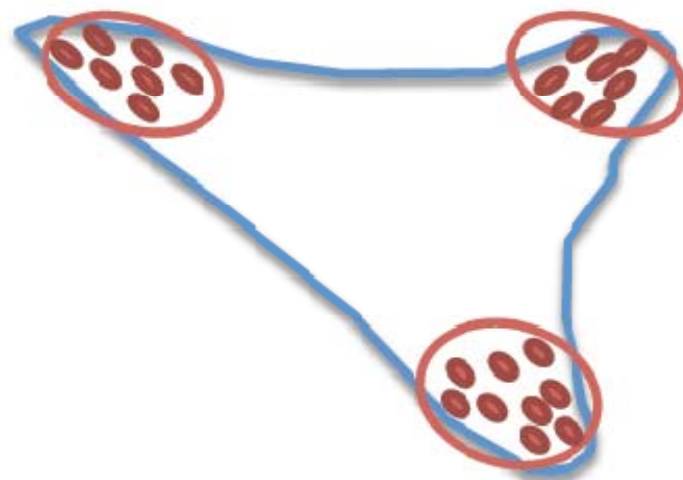


Figura 16. Localización de las adhesiones focales.

Aplicadas las fuerzas ya sobre el modelo de elementos finitos sobre la siguiente geometría (Figura 17):



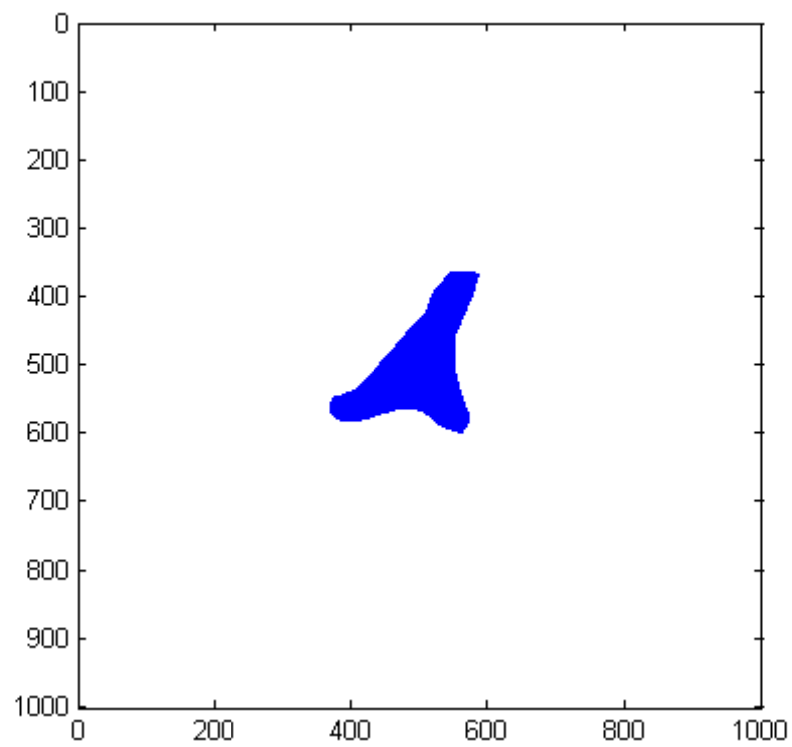


Figura 17. Geometría de la célula utilizada

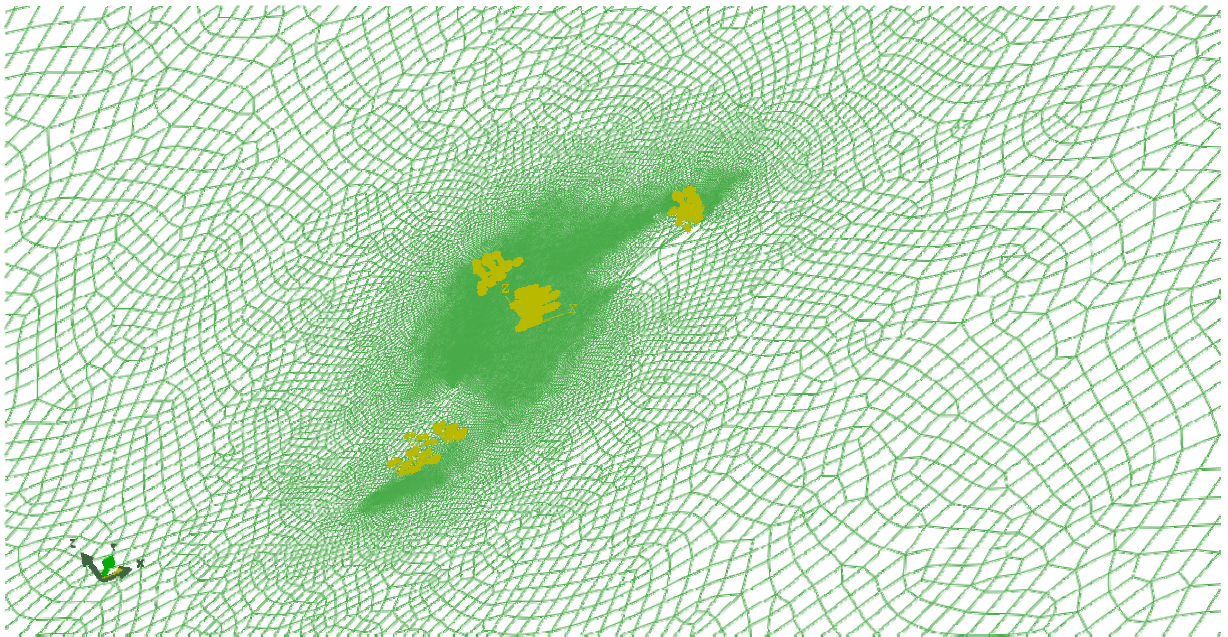


Figura 18. Mallado de la geometría y puntos de aplicación de fuerzas.

En caso de no tener idea alguna de los posibles lugares en los que hay posibilidad de aplicar fuerzas sería necesario suponer que es posible hacerlo en

cualquier punto de la célula. Para cada una de dichas fuerzas se obtiene un campo de desplazamientos como el que sigue:

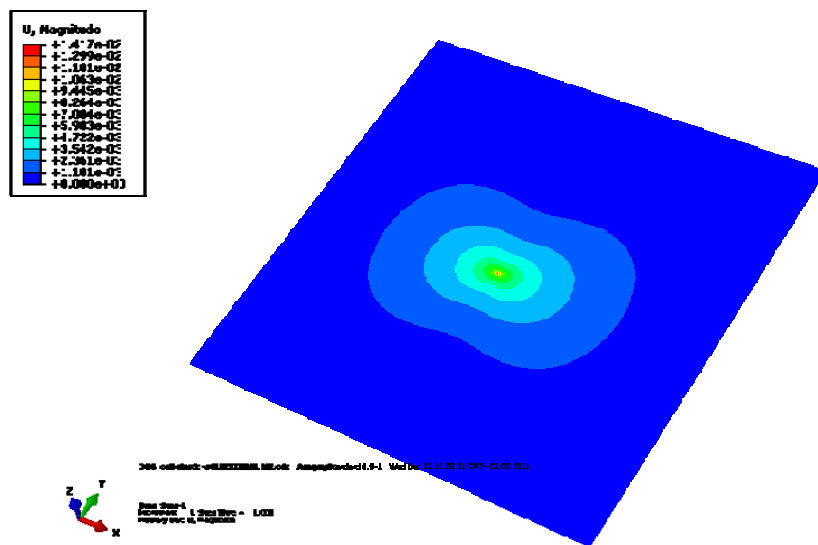


Figura 19. Campo de desplazamientos para una fuerza test horizontal

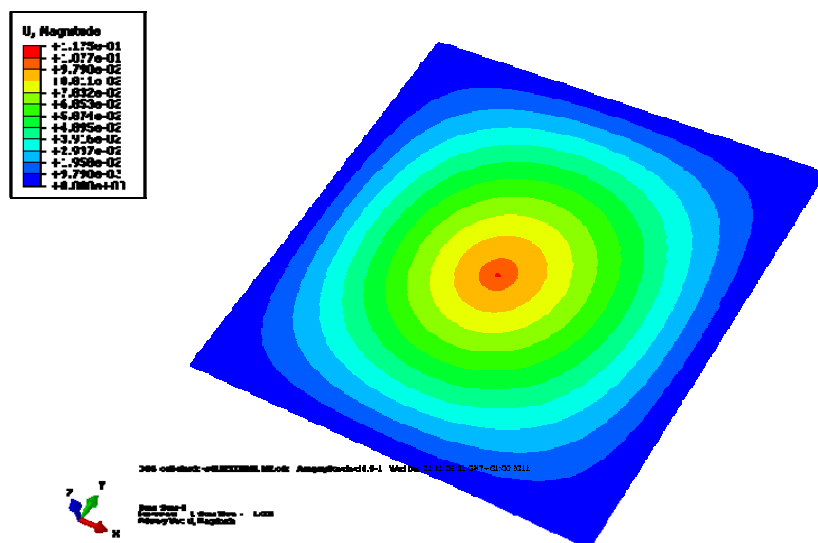


Figura 20. Campo de desplazamientos para una fuerza test perpendicular al plano

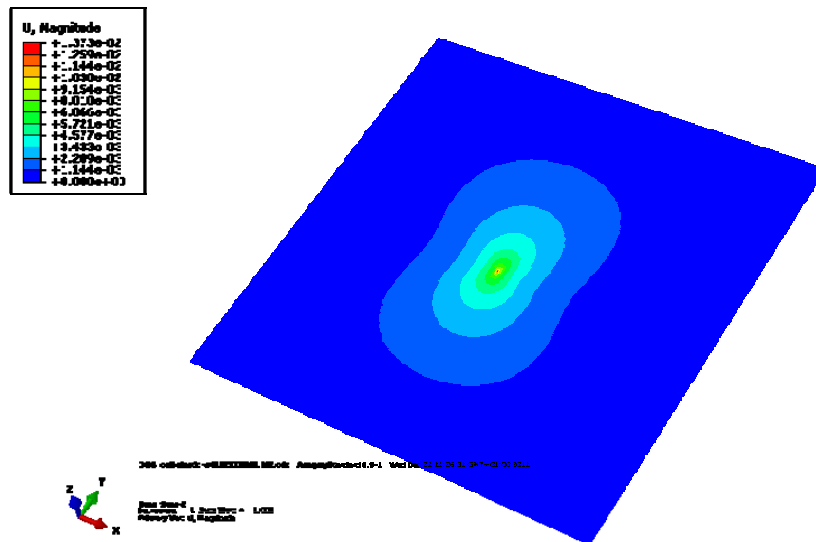


Figura 21. Campo de desplazamientos para una fuerza test vertical

Para obtener el campo de desplazamientos que generaría la célula y que tomaríamos como input aplicamos las siguientes fuerzas en cada una de las adhesiones focales nombradas como a1,a2..., b1,b2,b3.... y en cada una de las 3 direcciones espaciales (Tabla 5).

Tabla 5. Fuerzas y puntos de aplicación

Punto	Eje	Fuerza (nN)
a1	1	0.1
a1	2	0.173
a1	3	0.2
a2	1	0.11
a2	2	0.18
a2	3	0.25
a3	1	0.09
a3	2	0.16
a3	3	0.25
a4	1	0.12
a4	2	0.19
a4	3	0.23
b1	1	-0.12
b1	2	-0.12
b1	3	0.2
b2	1	-0.15

b2	2	-0.15
b2	3	0.225
b3	1	-0.01
b3	2	-0.01
b3	3	0.02
b4	1	-0.75
b4	2	-0.75
b4	3	0.1
c1	1	0.1
c1	2	-0.057
c1	3	0.08
c2	1	0.12
c2	2	-0.071
c2	3	0.1
c3	1	0.9
c3	2	-0.5
c3	3	0.1
c4	1	0.12
c4	2	-0.7
c4	3	0.13
centro1	1	0.1
centro1	2	0.2
centro1	3	0.1
Centro2	1	0.2
Centro2	2	-0.2
Centro2	3	0.8

El campo de desplazamientos resultante es (Figura 22):

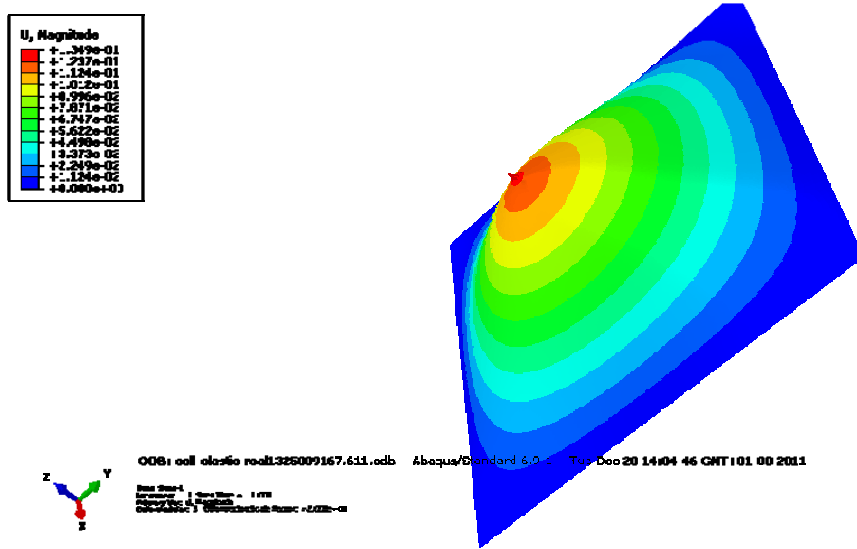


Figura 22. Campo de desplazamientos resultante.

Para estudiar la estabilidad de la solución frente a errores en los datos introduciremos perturbaciones aleatorias sobre la matriz  $\tilde{U}_{ij}$  y sobre el vector de desplazamientos reales. En el primer caso evaluaremos la estabilidad de la solución frente a errores que introduzca la solución en desplazamientos de elementos finitos. En el segundo estudiaremos la variación de la solución teniendo en cuenta los posibles errores cometidos en la medición de los desplazamientos.

Los errores introducidos serán aleatorios según una distribución normal con media 0 y varianza 1. Para tener en cuenta casos con diferentes errores se multiplicarán los valores aleatorios por potencias negativas de 10.

También realizaremos un estudio del parámetro de regularización de Tikhonov para conocer cualitativamente cual es su eficacia.

**Análisis de los resultados:** En la tabla 6 se muestran las fuerzas recuperadas

Tabla 6. Análisis de resultados

Fuerza Calculado	Fuerza Real (nN)	Error %
0.1000000000000240	0.1000000000000000	0.0000000000239947
0.1729999999747570	0.1730000000000000	0.0000000145913147
0.1999999994600370	0.2000000000000000	0.0000002699815094
0.1099999998345610	0.1100000000000000	0.0000001503990871
0.1800000001070910	0.1800000000000000	0.0000000594950015
0.2499999978467800	0.2500000000000000	0.00000008612879965
0.0900000000671150	0.0900000000000000	0.0000000745722311
0.1599999999454540	0.1600000000000000	0.0000000340912541
0.2500000027790130	0.2500000000000000	0.0000011116052079
0.1200000000627790	0.1200000000000000	0.0000000523158368
0.1900000000420310	0.1900000000000000	0.0000000221215736
0.23000000007453440	0.2300000000000000	0.00000003240626004
-0.1199999998891090	-0.1200000000000000	0.0000000924091590
-0.1200000001502920	-0.1200000000000000	0.0000001252433342
0.1999999966675220	0.2000000000000000	0.0000016662390079
-0.1500000000119630	-0.1500000000000000	0.0000000079753426
-0.15000000000802870	-0.1500000000000000	0.0000000535246662
0.22500000005817790	0.2250000000000000	0.00000002585684383
-0.01000000008975070	-0.0100000000000000	0.00000089750699928
-0.00999999993241130	-0.0100000000000000	0.00000067588700088
0.0199999802580490	0.0200000000000000	0.00000987097550052
-0.7499999994790950	-0.7500000000000000	0.0000000694539981
-0.7499999991341020	-0.7500000000000000	0.00000001154530693
0.1000000297282330	0.1000000000000000	0.0000297282330003
0.099999999552010	0.1000000000000000	0.0000000447990117
-0.05700000000383820	-0.0570000000000000	0.0000000673368403
0.0800000002586080	0.0800000000000000	0.0000003232599952
0.1200000000702220	0.1200000000000000	0.0000000585183406
-0.0709999999993920	-0.0710000000000000	0.0000000008563377
0.1000000001744450	0.1000000000000000	0.0000001744450001
0.899999999636180	0.9000000000000000	0.0000000040424454
-0.4999999999993780	-0.5000000000000000	0.0000000001244005
0.0999999996081060	0.1000000000000000	0.0000003918940034
0.1200000000335560	0.1200000000000000	0.0000000279633377
-0.6999999999460360	-0.7000000000000000	0.0000000077091349
0.1300000000214480	0.1300000000000000	0.0000000164984479
0.1000000000115980	0.1000000000000000	0.0000000115980003
0.2000000000133990	0.2000000000000000	0.0000000066994882
0.1000000015485770	0.1000000000000000	0.0000015485769889
0.199999999948820	0.2000000000000000	0.0000000025590086
-0.2000000000119150	-0.2000000000000000	0.0000000059574984
0.7999999990605290	0.8000000000000000	0.0000001174338821

El error relativo máximo es 9.87098E-05%

A continuación se muestra la evolución del error al introducir las perturbaciones. En verde se muestra el error para la solución sin regularizar y con azul para el regularizado. El parámetro de regularización es  $1e-6$  y la matriz de regularización la identidad. Una variación del 5º decimal supone un error del orden del 1%.

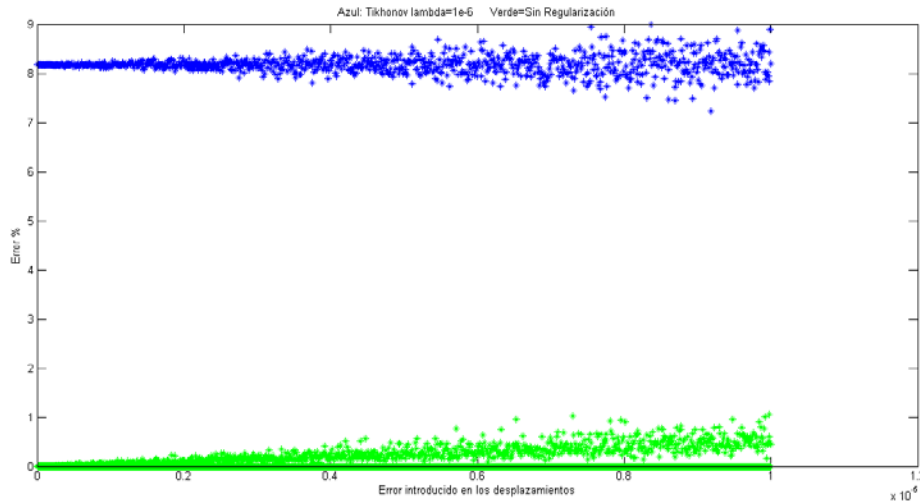


Figura 23. Errores con y sin regularizar con matriz identidad

Con el mismo parámetro de regularización pero con otra matriz (tridiagonal  $[-1 \ 2 \ -1]$ ) obtenemos los siguientes resultados

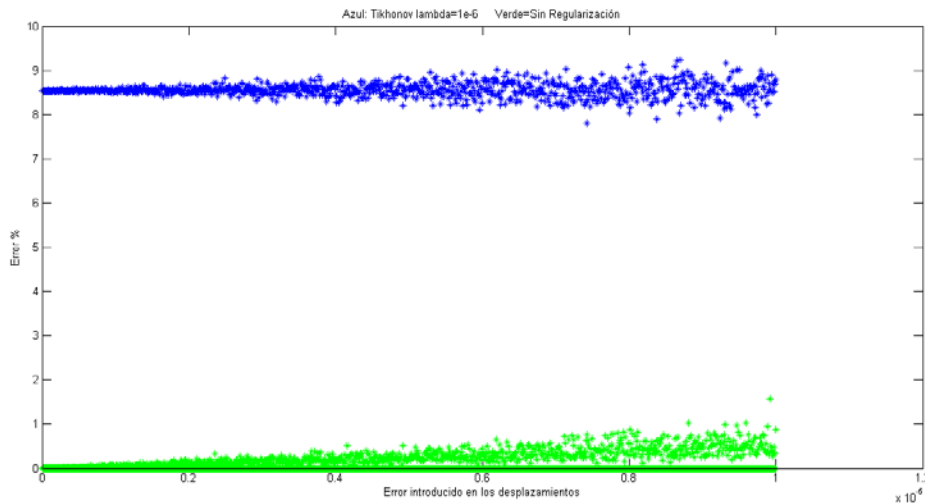


Figura24. Errores con y sin regularizar con matriz tridiagonal  $[-1 \ 2 \ -1]$

La dispersión de los errores es menor con la nueva matriz pero el error promedio es ligeramente mayor.

Es preciso destacar que mientras el error en la solución no regularizada es creciente, en el caso regularizado el promedio es aproximadamente constante.

#### *4.4 Aplicación del método propuesto para la resolución del problema inverso en un medio elástico no-lineal en configuración semi-3D:*

A continuación se expone un caso sobre una geometría semi-3D y material no-lineal en el que, para un campo de desplazamientos dados (generados con elementos finitos), se recuperan las fuerzas

Propiedades del material:

El material utilizado como sustrato es un hidrogel con una concentración de colágeno del 1% y una concentración de agarosa del 1% que tiene las siguientes propiedades elásticas (Figura 25, cortesía de los colaboradores del CEIT):

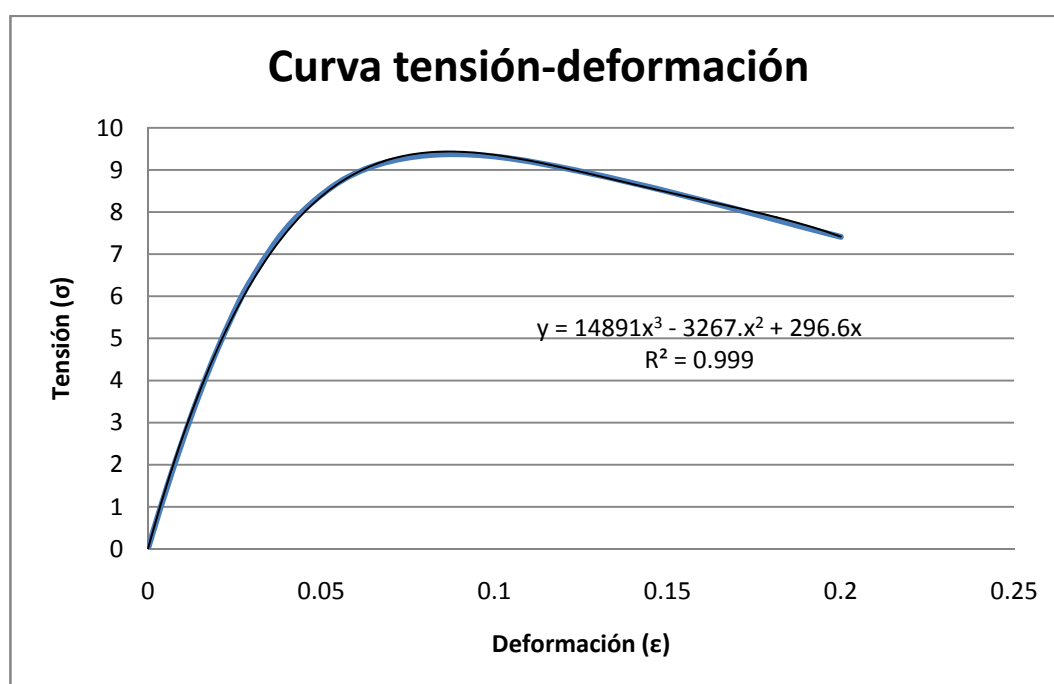


Figura 25. Curva tensión nominal(kPa)-deformación nominal

Curva tensión (kPa)-deformación del material cl1a1. La relación tensión-deformación es claramente no lineal. La función de densidad de energía de deformación (obtenida en el Anexo II), basándonos en el modelo de Mooney Rivlin es:



$$W = -1640.47 \cdot (I_1 - 3) + 2061.55 \cdot (I_2 - 3)$$

En las mismas zonas que en el caso del material elástico se aplican las siguientes fuerzas (en nN), Tabla 7:

Tabla 7. Fuerzas y puntos de aplicación

Punto	Eje	Fuerza (nN)
A1	1.	10
A1	2.	17.3
A1	3.	20
A2	1.	11
A2	2.	18
A2	3.	25
A3	1.	9
A3	2.	16
A3	3.	25
A4	1.	12
A4	2.	19
A4	3.	23
B1	1.	-50
B1	2.	-50
B1	3.	20
B2	1.	-15
B2	2.	-15
B2	3.	23
B3	1.	-1
B3	2.	-1
B3	3.	2
B4	1.	-75
B4	2.	-75
B4	3.	10
C1	1.	10
C1	2.	-57
C1	3.	8
C2	1.	12
C2	2.	-7.1
C2	3.	10
C3	1.	90
C3	2.	-50
C3	3.	10
C4	1.	120
C4	2.	-70
C4	3.	100
D1	1.	50
D1	2.	25
D1	3.	25
E1	1.	20
E1	2.	-20
E1	3.	80

En esta ocasión se introducen como fuerzas test 1, 10 y 100 nN en cada uno de los diferentes puntos en los que la célula podría aplicar fuerzas. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 8:

Tabla 8. Comparación de resultados

Calculado	Real	Err %	Err absoluto
0.13	10.00	98.7	9.87
15.34	17.30	12.78	1.96
20.34	20.00	1.68	0.34
10.95	11.00	0.45	0.05
18.36	18.00	1.95	0.36
25.69	25.00	2.70	0.69
8.10	9.00	11.07	0.90
19.56	16.00	18.21	3.56
25.80	25.00	3.09	0.80
12.22	12.00	1.81	0.22
19.47	19.00	2.41	0.47
22.38	23.00	2.79	0.62
-49.67	-50.00	0.66	0.33
-49.93	-50.00	0.13	0.07
20.02	20.00	0.12	0.02
-14.17	-15.00	5.82	0.83
-15.00	-15.00	0.02	0.00
24.20	23.00	4.97	1.20
-1.41	-1.00	29.29	0.41
-0.96	-1.00	3.78	0.04
1.88	2.00	6.27	0.12
-76.53	-75.00	2.00	1.53
-74.90	-75.00	0.13	0.10
4.29	10.00	133.05	5.71
10.67	10.00	6.28	0.67
-57.90	-57.00	1.55	0.90
7.86	8.00	1.80	0.14
11.72	12.00	2.36	0.28
-6.68	-7.10	6.28	0.42
9.66	10.00	3.55	0.34
91.85	90.00	2.02	1.85
-50.75	-50.00	1.48	0.75
10.40	10.00	3.80	0.40
117.95	120.00	1.74	2.05
-69.10	-70.00	1.30	0.90
100.37	100.00	0.37	0.37
50.01	50.00	0.02	0.01
25.05	25.00	0.20	0.05
25.13	25.00	0.52	0.13
19.91	20.00	0.45	0.09
-20.08	-20.00	0.41	0.08
79.90	80.00	0.12	0.10

*4.5 Aplicación del método propuesto para la resolución del problema inverso en un medio elástico lineal en configuración 3D.*

A continuación se expone un caso sobre una geometría 3D (Figura 26) y material elástico lineal en el que, para un campo de desplazamientos dados (generados con elementos finitos), se recuperan las fuerzas

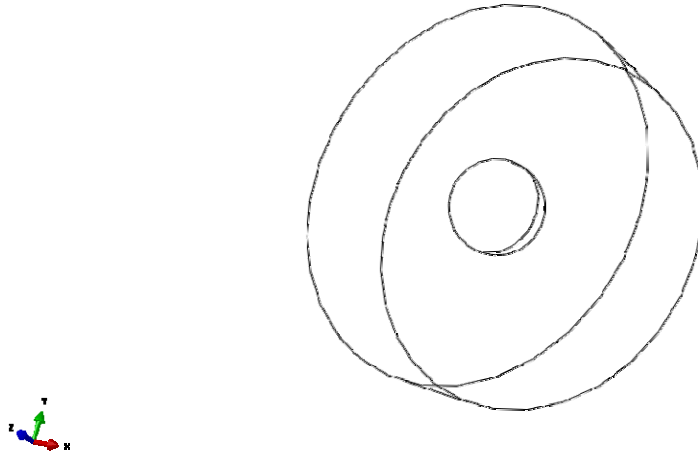


Figura 26: Disposición de la célula dentro del sustrato

Propiedades del material y célula (*Sabass et al., 2008*):

Módulo de Young: 70kPa

Módulo de Poisson: 0,5

Espesor: 75  $\mu\text{m}$

Módulo de Young célula: 1kPa

Se proponen varias zonas (adhesiones focales, Figura 27) en los que la célula podría hacer fuerza y se aplican fuerzas test de 1nN en cada uno de los ejes.

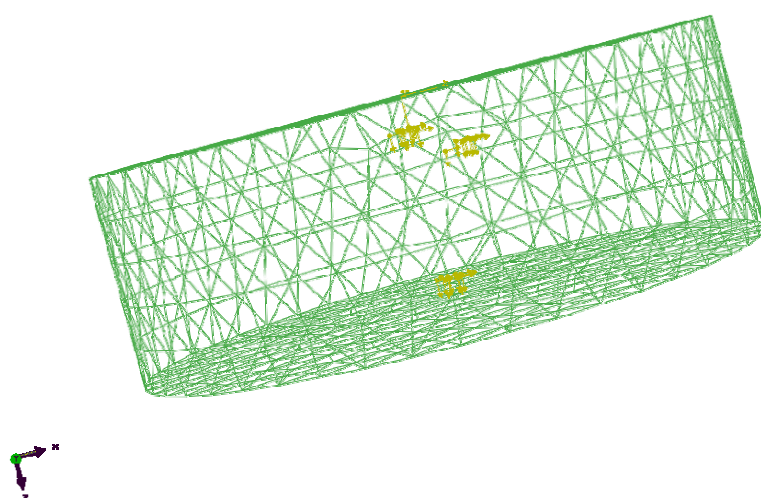


Figura 27: Adhesiones focales. Puntos de aplicación de fuerzas.

Para evaluar la bondad del método se introducirán fuerzas de magnitud conocida que se intentarán recuperar en diferentes lugares de aplicación.

Tabla 9. Recuperación de fuerzas y errores cometidos para el caso lineal.

Adhesión Focal	Eje	Fuerza(nN)	Frecuperada(nN)	Error relativo (%)	Error Absoluto(nN)
Part-3-1.pa1	1	10	10.0009	8.960E-03	8.960E-04
Part-3-1.pa1	2	10	9.9994	5.517E-03	5.517E-04
Part-3-1.pa1	3	-10	-9.9999	-8.002E-04	8.002E-05
Part-3-1.pa2	1	-15	-15.0000	-2.448E-04	3.673E-05
Part-3-1.pa2	2	15	15.0000	1.750E-04	2.625E-05
Part-3-1.pa2	3	30	30.0001	1.871E-04	5.614E-05
Part-3-1.pa3	1	1	0.9967	3.259E-01	3.259E-03
Part-3-1.pa3	2	2	2.0029	1.443E-01	2.886E-03
Part-3-1.pa3	3	3	2.9993	2.232E-02	6.697E-04
Part-3-1.pa4	1	10	9.9988	1.236E-02	1.236E-03
Part-3-1.pa4	2	100	100.0014	1.422E-03	1.422E-03
Part-3-1.pa4	3	100	99.9997	2.931E-04	2.931E-04
Part-3-1.pb1	1	-50	-49.9989	-2.169E-03	1.084E-03
Part-3-1.pb1	2	-50	-50.0011	-2.292E-03	1.146E-03
Part-3-1.pb1	3	-50	-49.9997	-6.118E-04	3.059E-04
Part-3-1.pb2	1	-20	-19.9999	-7.385E-04	1.477E-04
Part-3-1.pb2	2	20	19.9999	5.163E-04	1.033E-04
Part-3-1.pb2	3	-20	-20.0001	-4.585E-04	9.170E-05

Al igual que en los casos 2D y semi-3D el error cometido al recuperar las fuerzas es mínimo. El máximo error relativo es inferior al 0.4%. Los errores mayores se cometen en la recuperación de las fuerzas más pequeñas en módulo, las que menor contribución tienen para generar el campo de desplazamientos.

#### 4.6 Aplicación del método propuesto para la resolución del problema inverso en un medio elástico no-lineal en configuración 3D.

A continuación se expone un caso sobre una geometría 3D y material no-lineal en el que, para un campo de desplazamientos dados (generados con elementos finitos), se recuperan las fuerzas

Propiedades del material:

Propiedades del material:

El material utilizado como sustrato es un hidrogel con una concentración de colágeno del 1% y una concentración de agarosa del 1% que tiene las siguientes propiedades elásticas (cortesía de los colaboradores del CEIT): Módulo de Young célula: 1kPa

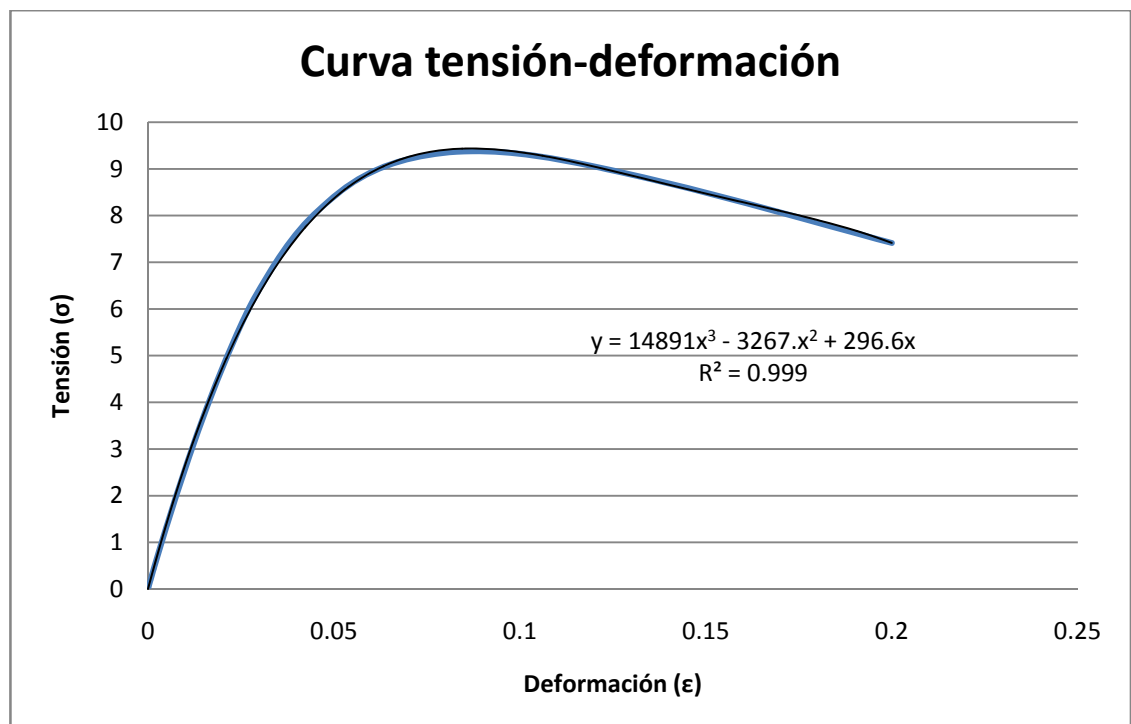


Figura 27. Curva tensión nominal (kPa)-deformación nominal

Curva tensión (kPa)-deformación del material c1a1. La relación tensión-deformación es claramente no lineal. La función de densidad de energía de deformación (obtenida en el Anexo II), basándonos en el modelo de Mooney Rivlin es:

$$W = -1640.47 \cdot (I_1 - 3) + 2061.55 \cdot (I_2 - 3)$$

En las mismas zonas que en el caso del material elástico se aplican las siguientes fuerzas (en nN) :

Los resultados los encontramos en la tabla 10.

Tabla 10. Recuperación de fuerzas y errores cometidos para el caso no-lineal.

Adhesión Focal	Eje	Fuerza(nN)	Frecuperada (nN)	Error relativo (%)	Error Absoluto(nN)
Part-3-1.pa1	1	10	8.114E+00	1.886E+01	1.886E+00
Part-3-1.pa1	2	10	1.311E+01	3.112E+01	3.112E+00
Part-3-1.pa1	3	-10	-6.290E+00	-3.710E+01	3.710E+00
Part-3-1.pa2	1	-15	-1.703E+01	-1.350E+01	2.025E+00
Part-3-1.pa2	2	15	1.084E+01	2.771E+01	4.157E+00
Part-3-1.pa2	3	30	3.062E+01	2.053E+00	6.160E-01
Part-3-1.pa3	1	1	1.650E+00	6.503E+01	6.503E-01
Part-3-1.pa3	2	2	-5.576E+00	3.788E+02	7.576E+00
Part-3-1.pa3	3	3	-5.431E+00	2.810E+02	8.431E+00
Part-3-1.pa4	1	10	1.727E+01	7.266E+01	7.266E+00
Part-3-1.pa4	2	100	9.458E+01	5.416E+00	5.416E+00
Part-3-1.pa4	3	100	8.911E+01	1.089E+01	1.089E+01
Part-3-1.pb1	1	-50	-4.726E+01	-5.472E+00	2.736E+00
Part-3-1.pb1	2	-50	-4.175E+01	-1.651E+01	8.253E+00
Part-3-1.pb1	3	-50	-4.626E+01	-7.474E+00	3.737E+00
Part-3-1.pb2	1	-20	-1.991E+01	-4.677E-01	9.354E-02
Part-3-1.pb2	2	20	2.341E+01	1.705E+01	3.410E+00
Part-3-1.pb2	3	-20	-1.839E+01	-8.061E+00	1.612E+00

Si las fuerzas son de magnitudes parecidas los errores disminuyen y siguen siendo mayores en las adhesiones focales con menores fuerzas (ver Tabla 11)

Tabla 11. Recuperación de fuerzas y errores cometidos para el caso no-lineal.

Adhesión Focal	Eje	Fuerza(nN)	Recuperada (nN)	Error relativo (%)	Error Absoluto(nN)
Part-3-1.pa1	1	10	9.573E+00	4.266E+00	4.266E-01
Part-3-1.pa1	2	10	1.349E+01	3.492E+01	3.492E+00
Part-3-1.pa1	3	-10	-7.647E+00	-2.353E+01	2.353E+00
Part-3-1.pa2	1	-15	-1.736E+01	-1.573E+01	2.360E+00
Part-3-1.pa2	2	15	1.071E+01	2.860E+01	4.291E+00
Part-3-1.pa2	3	30	2.986E+01	4.602E-01	1.380E-01
Part-3-1.pa3	1	1	2.270E+00	1.270E+02	1.270E+00
Part-3-1.pa3	2	2	-1.194E+00	1.597E+02	3.194E+00
Part-3-1.pa3	3	3	4.465E-01	8.512E+01	2.554E+00
Part-3-1.pa4	1	10	1.887E+01	8.869E+01	8.869E+00
Part-3-1.pa4	2	20	2.120E+01	5.985E+00	1.197E+00
Part-3-1.pa4	3	30	2.692E+01	1.026E+01	3.079E+00
Part-3-1.pb1	1	-12	-1.092E+01	-8.977E+00	1.077E+00
Part-3-1.pb1	2	-11	-7.556E+00	-3.131E+01	3.444E+00
Part-3-1.pb1	3	-10	-9.576E+00	-4.239E+00	4.239E-01
Part-3-1.pb2	1	-20	-1.958E+01	-2.098E+00	4.196E-01
Part-3-1.pb2	2	20	2.393E+01	1.967E+01	3.934E+00
Part-3-1.pb2	3	-20	-1.933E+01	-3.330E+00	6.660E-01

En el caso de que todas las fuerzas fueran iguales y de pequeña magnitud obtenemos los siguientes resultados (Tabla 12) :

Tabla 12. Recuperación de fuerzas y errores cometidos para el caso no-lineal y fuerzas de pequeña magnitud.

Adhesión Focal	Eje	Fuerza(nN)	Frecuperada (nN)	Error relativo (%)	Error Absoluto(nN)
Part-3-1.pa1	1	20	2.180E+01	8.995E+00	1.799E+00
Part-3-1.pa1	2	20	2.121E+01	6.074E+00	1.215E+00
Part-3-1.pa1	3	20	1.689E+01	1.555E+01	3.110E+00
Part-3-1.pa2	1	20	1.877E+01	6.148E+00	1.230E+00
Part-3-1.pa2	2	20	1.819E+01	9.033E+00	1.807E+00
Part-3-1.pa2	3	20	2.132E+01	6.607E+00	1.321E+00
Part-3-1.pa3	1	20	2.043E+01	2.132E+00	4.263E-01
Part-3-1.pa3	2	20	1.928E+01	3.619E+00	7.237E-01
Part-3-1.pa3	3	20	2.310E+01	1.549E+01	3.098E+00
Part-3-1.pa4	1	20	3.216E+01	6.078E+01	1.216E+01
Part-3-1.pa4	2	20	2.751E+01	3.756E+01	7.512E+00
Part-3-1.pa4	3	20	2.423E+01	2.115E+01	4.229E+00
Part-3-1.pb1	1	20	1.973E+01	1.373E+00	2.746E-01
Part-3-1.pb1	2	20	2.259E+01	1.294E+01	2.589E+00
Part-3-1.pb1	3	20	2.026E+01	1.296E+00	2.592E-01
Part-3-1.pb2	1	20	1.603E+01	1.986E+01	3.972E+00
Part-3-1.pb2	2	20	1.595E+01	2.023E+01	4.046E+00
Part-3-1.pb2	3	20	1.489E+01	2.554E+01	5.108E+00



En el caso de que todas las fuerzas fueran iguales y de gran magnitud obtenemos los siguientes resultados:

Tabla 13. Recuperación de fuerzas y errores cometidos para el caso no-lineal y fuerzas de pequeña magnitud.

Adhesión Focal	Eje	Fuerza(nN)	Frecuperada (nN)	Error relativo (%)	Error Absoluto(nN)
Part-3-1.pa1	1	120	1.303E+02	8.625E+00	1.035E+01
Part-3-1.pa1	2	120	1.269E+02	5.733E+00	6.880E+00
Part-3-1.pa1	3	120	1.016E+02	1.534E+01	1.841E+01
Part-3-1.pa2	1	120	1.121E+02	6.596E+00	7.916E+00
Part-3-1.pa2	2	120	1.085E+02	9.613E+00	1.154E+01
Part-3-1.pa2	3	120	1.276E+02	6.371E+00	7.646E+00
Part-3-1.pa3	1	120	1.226E+02	2.194E+00	2.633E+00
Part-3-1.pa3	2	120	1.188E+02	9.695E-01	1.163E+00
Part-3-1.pa3	3	120	1.373E+02	1.443E+01	1.732E+01
Part-3-1.pa4	1	120	1.934E+02	6.116E+01	7.340E+01
Part-3-1.pa4	2	120	1.656E+02	3.803E+01	4.564E+01
Part-3-1.pa4	3	120	1.480E+02	2.330E+01	2.797E+01
Part-3-1.pb1	1	120	1.182E+02	1.477E+00	1.773E+00
Part-3-1.pb1	2	120	1.357E+02	1.310E+01	1.572E+01
Part-3-1.pb1	3	120	1.213E+02	1.093E+00	1.311E+00
Part-3-1.pb2	1	120	9.732E+01	1.890E+01	2.268E+01
Part-3-1.pb2	2	120	9.553E+01	2.039E+01	2.447E+01
Part-3-1.pb2	3	120	8.918E+01	2.569E+01	3.082E+01

El error promedio es en ambos casos del 15% . El número de campos de desplazamientos test que elijamos dependerá de la importancia que se dé a las fuerzas de menor magnitud. Si el interés se centra en las fuerzas de mayor magnitud bastará con tomar unos pocos.

## 5. Comparación de los diferentes métodos:

### 5.1 Recuperación de las fuerzas con aproximación de mínimos cuadrados y solución de Boussinesq en configuración 2D:

Es interesante conocer la capacidad de recuperar las fuerzas si el campo de desplazamientos test se ha creado mediante la solución de Boussinesq en lugar de con elementos finitos ya que la velocidad de cálculo es superior en el primer caso. Para ello se genera una solución con elementos finitos con un mallado muy fino que

supondremos representa una solución exacta o muy próxima a ella. Las fuerzas aplicadas, la geometría y las propiedades elásticas del sustrato son las mismas que las utilizadas para el caso 2D anteriormente analizado (sección 4.1)

La fuerza máxima aplicada era de 150nN. Las fuerzas recuperadas son de dos órdenes de magnitud superior, alrededor de 1e5nN. Los errores, como sugiere la bibliografía (Zhaochung Yang,2011) son inaceptables .

Si aumentamos el espesor del sustrato hasta los 300 $\mu$ m obtenemos unas fuerzas máximas en los ejes  $x$  e  $y$  de 1081 y 975nN respectivamente que corresponde a un error aproximado del 620%. Para un espesor del sustrato de 1000  $\mu$ m las fuerzas máximas recuperadas son de 324 y 292 nN respectivamente. En este caso el error es del 116%. El error máximo para el caso elástico 2D resuelto con la metodología propuesta es 5e-7%, significativamente inferior.

Para todos los espesores se ha considerado que la fuerza aplicada no es puntual si no que se aplica sobre un cuadrado de 0.02  $\mu$ m, que tras varias pruebas se ha considerado como óptimo. La suposición de que la fuerza aplicada no es puntual si no que se aplica sobre una pequeña superficie se realiza para evitar la singularidad propia de la solución de Boussinesq en el punto de aplicación de las fuerzas que ocasiona grandes errores en los puntos más próximos.

## 5.2 Recuperación de las fuerzas con FTTC y configuración elástico lineal 2D:

De forma análoga al caso anterior, intentaremos recuperar las fuerzas con la metodología FTTC. Los desplazamientos han sido creados de igual manera. Se han considerado espesores de 75, 300 y 1000  $\mu$ m para evaluar la evolución de los resultados. Los resultados para el espesor de 75  $\mu$ m ofrecen unos errores inadmisibles.

Espesor ( $\mu$ m)	Resolución ( $\mu$ m/pixel)	Lado cuadrado integración	Fx,Fy máximas (nN)	Error (%)
300	0,2	0.02	(70.6, 27.4)	72.6%
300	0,1	0,02	(29.1, 11.2)	88,8%

1000	0,1	0,001	(891, 347.7)	494%
1000	0,1	0,02	(324,292)	192%

Los errores presentan una gran dependencia tanto de la resolución elegida para determinar los desplazamientos como del área en la que se haga la integración de las fuerzas para evitar los problemas asociados a las singularidades de la solución de Boussinesq. Sería necesario obtener los parámetros óptimos para cada caso.

Los resultados obtenidos por las metodologías de Boussinesq y de FTTC son muy malos. La bibliografía actual recomienda la regularización para obtener mejores resultados, no obstante, ninguna indica ni la matriz de regularización ni el parámetro de Tikhonov que han utilizado para obtener los resultados que publican.

## 6. Análisis del coste computacional

Una de las ventajas del método FTTC (Butler et al., 2002) es la rapidez de cálculo. El método obtiene en unos pocos segundos (7-400s dependiendo de la máquina y la resolución) la solución del problema aunque tiene un consumo de memoria RAM muy intensivo. La rapidez de este método se debe fundamentalmente a que no se necesita calcular un campo de desplazamientos previo. La solución se obtiene directamente al invertir el tensor de Green de la solución de Boussinesq.

El método propuesto tiene un coste computacional muy superior debido a la necesidad de calcular mediante elementos finitos uno o varios campos de desplazamientos según sea el comportamiento lineal o no.

Para mallados finos, con una resolución incluso mayor a la que se puede obtener con TFM, el tiempo de computación es sustancialmente superior. A continuación se muestran algunos ejemplos:

Procesador: IntelCore i7 950 a 3.07GHz

Memoria RAM instalada: 4GB

Tipo Cálculo	Dimensión	Número de Nodos	Tiempo calculo campos test (ABAQUS)	Tiempo de cálculo fuerzas (Matlab)
Lineal	2D	92679	3118s	25s
No lineal	Semi3D	30732	3503s	19s
No-lineal	3D	10207	2600s	20s

El coste computacional es claramente superior pero se obtienen unos resultados superiores. Un aumento de la memoria RAM instalada disminuiría el tiempo de cálculo altamente a un bajo coste. La mayoría de los nuevos ordenadores de consumo disponen de entre 6 GB y 8 GB de memoria RAM por lo que los tiempos de cálculo se pueden ver reducidos.

## 7. Conclusiones

- Se ha propuesto un nuevo método basado en la aproximación por elementos finitos del campo de desplazamientos con fuerzas test y la minimización con mínimos cuadrados para determinar las fuerzas de tracción que ejercen las células sobre sustratos a partir de los campos de desplazamientos obtenidos a través de TFM (Traction Force Microscopy o Microscopía de Fuerzas de Tracción). Este método permite recuperar las fuerzas tanto en sustratos con comportamiento lineal como no-lineal para diferentes condiciones geométricas.
- Las recuperaciones de fuerzas con Boussinesq y con FTTC muestran que sus resultados son muy dependientes tanto de la resolución elegida como del área en la que se integra la fuerza para evitar la singularidad inherente a la solución de Boussinesq como del espesor del sustrato.
- Se ha propuesto un nuevo método para determinar las fuerzas de tracción que ejercen las células sobre sustratos a partir de los campos de desplazamientos obtenidos a través de TFM (*Traction Force Microscopy* o Microscopía de Fuerzas de Tracción). Este método permite recuperar las fuerzas tanto en sustratos con comportamiento lineal como no-lineal.
- La precisión del método es muy alta cuando se considera un comportamiento elástico del sustrato. Para el caso no-lineal la precisión disminuye aunque se puede aumentar considerando más campos de desplazamientos de aproximación. En cualquier caso la precisión es muy superior a asumir un comportamiento puramente lineal del material como consideran los métodos actuales de recuperación de fuerzas.
- Si el campo de desplazamientos está creado por fuerzas de magnitudes muy dispares se recuperan con mayor precisión las fuerzas de mayor magnitud. Por lo que si estamos interesados en recuperar las fuerzas de menor magnitud con precisión se deberán generar más campos de desplazamientos test.
- Como continuación al presente trabajo se propone el uso de redes neuronales, reducción de modelos y SVM (*Support Vector Machine*) para determinar la distancia a la que los desplazamientos dejan de ofrecer información suficiente para obtener las fuerzas con precisión.

# ANEXOS

### Anexo I: Ejemplo de aplicación de redes neuronales.

A continuación se muestra un pequeño ejemplo en el que se utiliza una red neuronal para obtener las fuerzas que deforman a una barra empotrada:

Supongamos que los posibles puntos de aplicación de las fuerzas son los nodos 2 y 3 (Figura A1 y Figura A2) , es decir, en este caso nuestra célula sería unidimensional y ocuparía esos nodos.

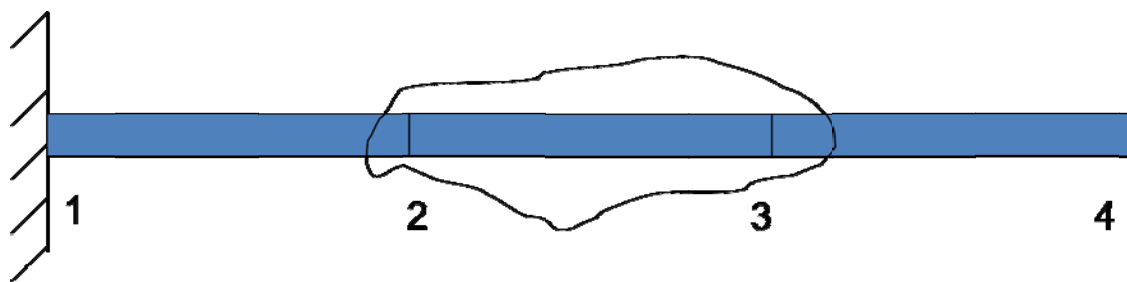


Figura A1. Ejemplo de geometría y puntos de aplicación de fuerzas

Supondremos dos estados de carga cualesquiera, por ejemplo, un estado en el que una cierta carga se encuentra en un nodo y otro en el que otra carga se ejerce sobre el otro nodo. Se muestran a continuación (Tablas A1 y A2) los resultados obtenidos con el programa de cálculo matricial AMEB para dichas situaciones:

Estado de cargas 1

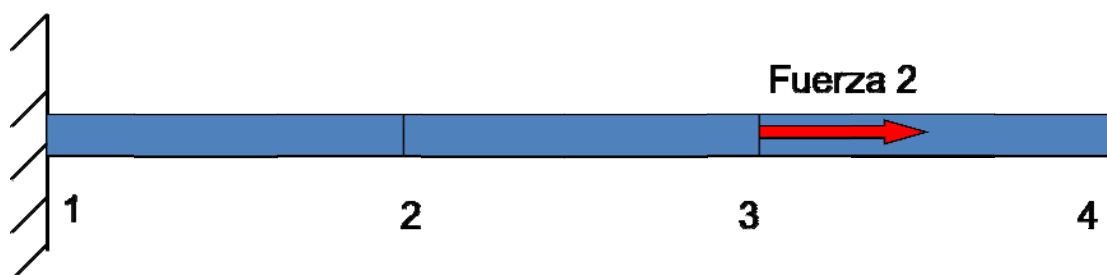


Figura A2. Primer estado de cargas

Tabla A1. Desplazamientos asociados al estado de cargas 1

Nodo	Desplazamiento X (mm)	Desplazamiento Y(mm)
1	0.00E+00	0.00E+00
2	9.52E-08	0.00E+00
3	1.90E-07	0.00E+00
4	1.90E-07	0.00E+00

Estado de cargas 2

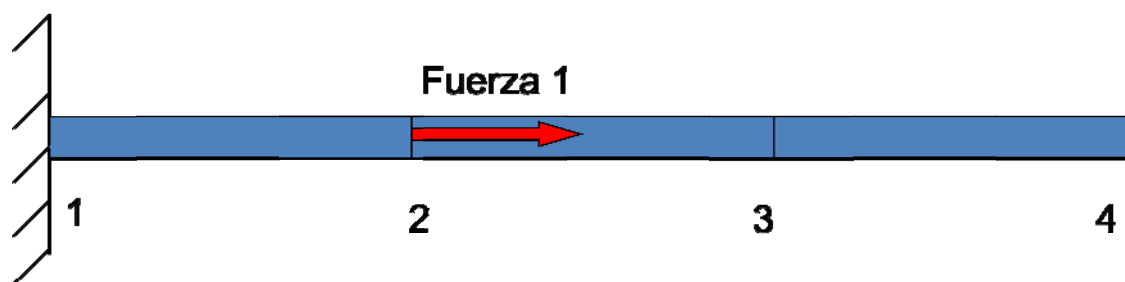


Figura A3. Segundo estado de cargas

Tabla A2. Desplazamientos asociados al estado de cargas 2

Nodo	Desplazamiento X (mm)	Desplazamiento Y(mm)
1	0.00E+00	0.00E+00
2	4.76E-08	0.00E+00
3	4.76E-08	0.00E+00
4	4.76E-08	0.00E+00



A continuación generamos en MatLab un vector que contenga los desplazamientos en todos los puntos de la barra para cada uno de los estados de carga y para combinaciones lineales de los mismos. Es importante introducir los desplazamientos en los todos los nodos. Si no se hace así no podemos asegurar que estamos entrenando correctamente a la red.

Para crear los estados de cargas se ha programado una función MatLab que aprovechando la linealidad del problema nos permite generar rápida y fácilmente los resultados. En este caso creamos 200 estados de carga.

El siguiente paso consiste en crear una red neuronal con MatLab. Utilizaremos 400 neuronas en la capa intermedia y el algoritmo de Levenberg-Marquart para su entrenamiento.



Figura A4. Parámetros de la simulación de redes neuronales

Una vez creada y entrenada la red podemos obtener los resultados para los desplazamientos dados. Como ejemplo tomemos el vector de desplazamientos (0, 1e-6, 1e-6, 1e-6). El resultado de simular la red con dicho vector de desplazamientos como input es el siguiente:

$$f_1 = 0 \text{ N}$$

$$f_2 = 104.5504 \text{ N}$$

$$f_3 = -0.0086 \text{ N}$$

$$f_4 = 0 \text{ N}$$

Podemos comprobar con AMEB (Figura A5) que las fuerzas recuperadas proporcionan unos desplazamientos muy próximos a los originales.

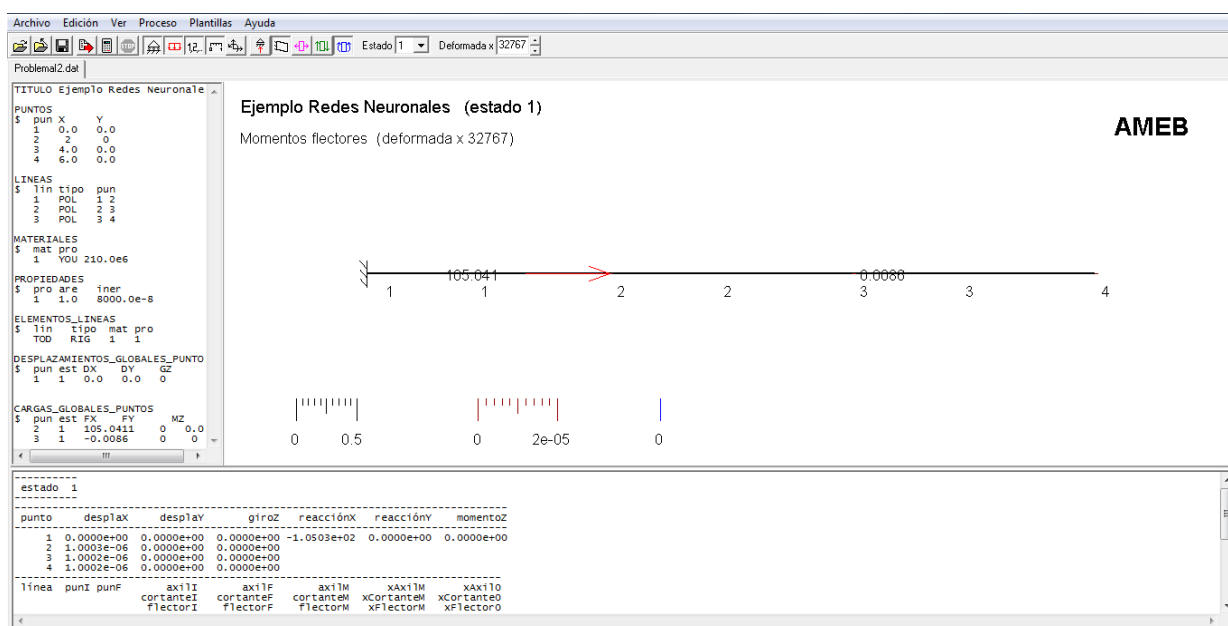


Figura A5. Resultados en desplazamientos con las fuerzas recuperadas

## Anexo II: Determinación de las funciones de densidad de energía de deformación para los hidrogeles.

Los materiales cuyo comportamiento depende únicamente del estado actual de deformación se denominan generalmente elásticos. Si la relación entre las tensiones y las deformaciones es lineal ( $\sigma = E \cdot \varepsilon$ ) entonces se denominan elástico lineales.

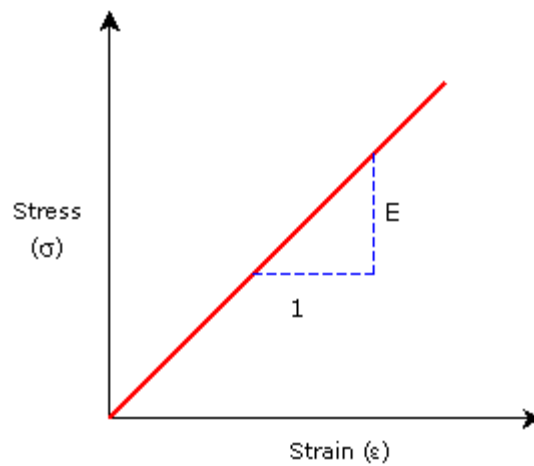


Figura A6. Comportamiento de material lineal

Los hidrogeles sobre los que se colocan las células para realizar experimentos de TFM exhiben en general un altamente no lineal (Figura A7) y cuasi-incompresible que podemos asemejar a un modelo hiperelástico con módulo de Poisson 0.5.

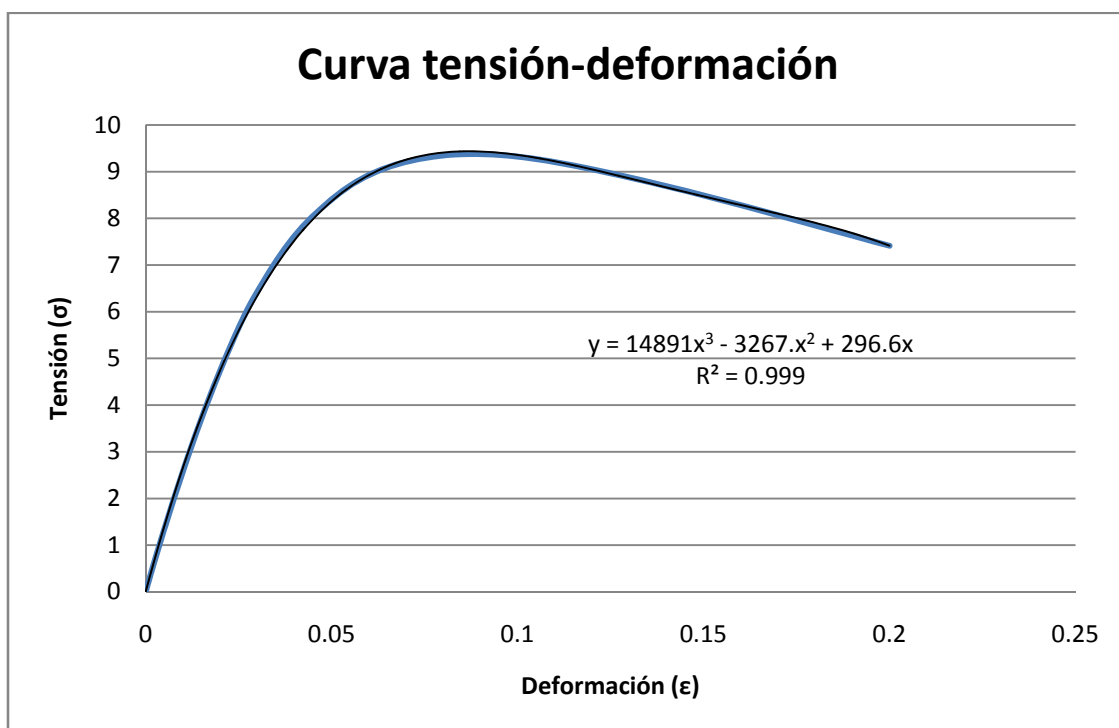


Figura A7. Comportamiento no-lineal de un material

La función de densidad de energía de deformación es una función escalar que relaciona la densidad de energía de deformación con el gradiente de deformación (con

un tensor de deformación). Su derivada con respecto al correspondiente tensor de deformación determinará el tensor de tensiones asociado.

El gradiente de deformación asociado a un ensayo de tracción uniaxial de un material incompresible es:

$$F = \begin{bmatrix} \lambda & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{\sqrt{\lambda}} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{\sqrt{\lambda}} \end{bmatrix}$$

Si llamamos  $S_{ij}$  al segundo tensor de Piola, que relaciona las fuerzas y áreas de la configuración indeformada,  $W$  a la función de densidad de energía de deformación y  $E$  al tensor de deformaciones de Green-Lagrange podemos demostrar que:

$$S_{ij} = \frac{\partial W}{\partial E_{ij}}$$

La bibliografía (Cat et al., 2009) sugiere que la ley de Mooney-Rivlin es adecuada para describir el comportamiento de los hidrogeles. La función de densidad de energía de deformación puede escribirse en función de los invariantes del tensor de deformación de Cauchy-Green por la izquierda y de dos constantes  $C_1$  y  $C_2$

$$W = C_1 \cdot (I_1 - 3) + C_2 \cdot (I_2 - 3)$$

A partir de ella podemos obtener la tensión nominal como:

$$\sigma = 2 \cdot (\lambda^2 - \lambda^{-1}) (C_1 + \lambda^{-1} \cdot C_2)$$

Podemos escribir la tensión nominal en función de la tensión ingenieril (representada por el primer tensor de Piola), las deformaciones nominales y los alargamientos como sigue:

$$\begin{aligned} \sigma_N &= \sigma_{ing} (1 + \varepsilon_{ing}) \\ \varepsilon_N &= \ln(1 + \varepsilon_{ing}) \\ \lambda &= 1 + \varepsilon_N \end{aligned}$$

A continuación se muestran los pasos necesarios para obtener los coeficientes C1 y C2:

### 1. Datos experimentales

Los siguientes datos experimentales son cortesía de:[Poner nombres o nombre del instituto]

Tabla A3. Deformación y tensión ingenieril del ensayo uniaxial del material del andamio

$\epsilon_{ing}$	$\sigma_{ing}$
0.0001	0.304875
0.000146	0.4367955
0.000214	0.631728
0.000313	0.913647
0.000458	1.3248795
0.000669	1.90213425
0.000978	2.7660285
0.00143	4.0122225
0.00209	5.79975
0.00306	8.40888
0.00447	12.142755
0.00654	17.466705
0.00957	24.9992325
0.014	35.4375
0.0205	49.338375
0.0299	66.06405
0.0438	83.0448
0.064	96.432
0.0936	102.4218
0.137	99.462
0.2	88.95

## 2. Obtención de los alargamientos y tensiones nominales

Tabla A4. Alargamiento y tensión nominal del ensayo uniaxial del material del andamio

$\lambda$	$\sigma_N$
1	0
1.000099995	0.30490549
1.000145989	0.43685927
1.000213977	0.63186319
1.000312951	0.91393297
1.000457895	1.32548629
1.000668776	1.90340678
1.000977522	2.76873368
1.001428979	4.01795998
1.002087819	5.81187148
1.003055328	8.43461117
1.004460039	12.1970331
1.006518707	17.5809373
1.009524498	25.2384752
1.013902905	35.933625
1.020292703	50.3498117
1.02946171	68.0393651
1.0428679	86.6821622
1.062035391	102.603648
1.089475006	112.00848
1.128393215	113.088294
1.182321557	106.74

La curva correspondiente:

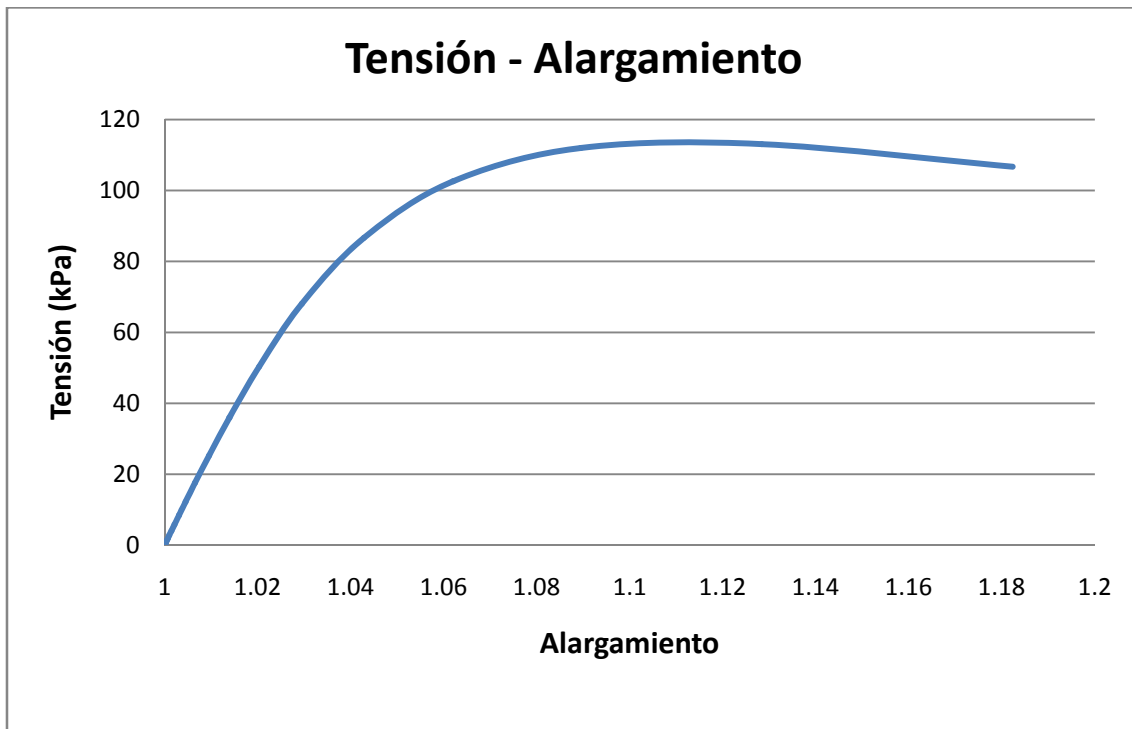


Figura A8. Curva tensión nominal-Alargamiento de un material no-lineal

### 3. Ajuste por mínimos cuadrados de los coeficientes:

Los coeficientes obtenidos son  $C_1 = -1517$  y  $C_2 = 1898$ . La bondad de la aproximación la estudiamos con el parámetro  $R^2$  cuyo valor es 0.9812. La aproximación es buena. La curva resultante es:

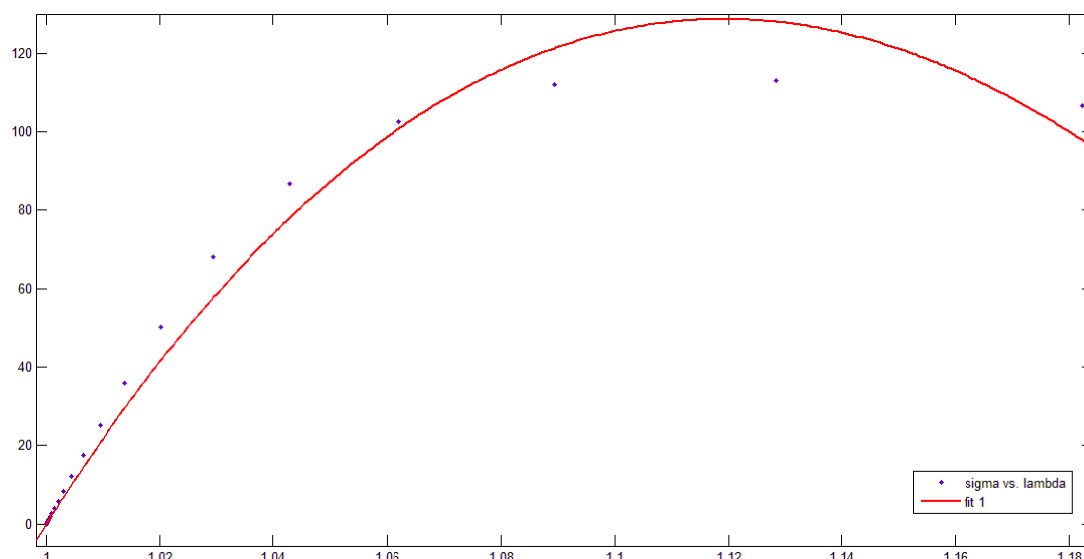


Figura A9. Curva de aproximación

La deformación nominal máxima es 0.119. A partir de ese punto la solución no es estable (hay dos estados de deformación que tienen la misma tensión) si no tenemos en cuenta el daño que sufre el material superado ese punto de tensión máxima.

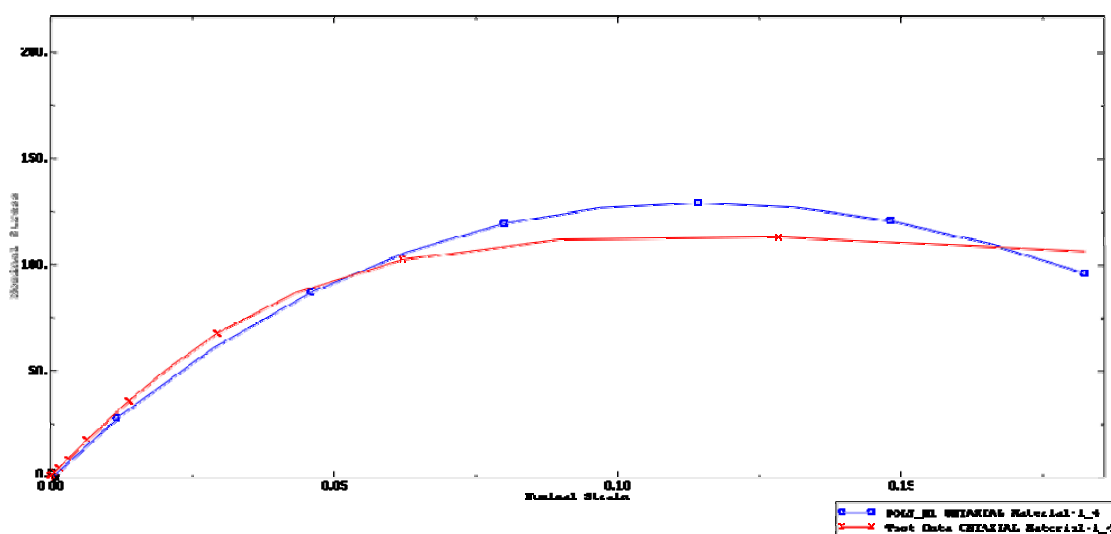


Figura A10. Comparación de la curva experimental y la aproximada

El paquete de CAE ABAQUS también ofrece la posibilidad de obtener los parámetros de la función de densidad de energía de deformación a partir de los valores de tensión y deformación nominal. Los coeficientes de la ley de material son  $C_1 = -1640,47$  y  $C_2 = 2061,55$ . El valor de deformación máxima que ofrece ABAQUS para que el material sea estable es 0.13.





## Bibliografía

**Boussinesq**, *Application des potentiels à l'étude de l'équilibre et du mouvement des solides élastiques*. (1885).

**Betchold et al.**, *Inverse thermal problem via model order reduction: Determining material properties of a microhotplate*. IMTEK, Freiburg, 2005.

**Butler et al**, *Traction fields, moments, and strain energy that cells exert on their surroundings*. *Am J Physiol Cell Physiol* 282: C595–C605, 2002.

**Cat D.T.; Pucci A.; Wandelt K.**; *Physics and engineering of new materials*. Springer, 2009.

**Landau, L.D.; Lifshitz, E. M.**, *Theory of Elasticity* (3rd ed.). Oxford, England: Butterworth Heinemann. (1986).

**Hadamard**, *Lectures on Cauchy's problem in linear partial differential equations* (1923)

**Hansen, O'Leary**, *The use of the L-Curve in the regularization of discrete ill-posed problems\**, *SIAM J. SCI. COMPUT.* Vol. 14, No. 6, pp. 148%1503, November 1993

**Huang et al.**, *Determination of Cellular Traction on Elastic Substrate Based on an Integral Boussinesq Solution*. *Journal of Biomechanical Engineering* JUNE 2009, Vol. 131 / 061009-1

**Krysl et al**, *Dimensional model reduction in non-linear finite element dynamics of solids and structures*. *Int. J. Numer. Meth. Engng* 2001; 51:479{504

**Sabass et al.**, *High Resolution traction Force Microscopy Based on Experimental and Computational Advances*. *Biophysical Journal*, Volume 94, January 2008, 207-220

**Schwarz et al**, *Calculation of Forces at Focal Adhesions from Elastic Substrate Data: The Effect of Localized Force and the Need for Regularization*. *Biophysical Journal* Volume 83 September 2002 1380–1394.

**Tejomurtula, S.; KaK, S.**; *Inverse Kinematics in robotics using neural networks* *Information Sciences* 116 (1999) 147-164

**Tikhonov, A. N.; Arsenin, V. Y.**, *Solutions of Ill-Posed Problems*. New York: Winston. ISBN 0470991240. (1977).

**Wang, J.H-C.; Lin, J.S.**, *Cell traction force and measurement methods* *Biomechan Model Mechanobiol* (2007) 6:361–371 DOI 10.1007/s10237-006-0068-4

**Web01**: [[http://es.wikipedia.org/wiki/Validaci%C3%B3n\\_cruzada](http://es.wikipedia.org/wiki/Validaci%C3%B3n_cruzada) 12/12/2011

**Web02:** [http://www.doc.ic.ac.uk/~nd/surprise\\_96/journal/vol4/cs11/report.html](http://www.doc.ic.ac.uk/~nd/surprise_96/journal/vol4/cs11/report.html)

**Web03:** [http://www.ansys.spb.ru/pdf/present/conflong\\_hyperel.pdf](http://www.ansys.spb.ru/pdf/present/conflong_hyperel.pdf)

